Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT
FÜR
VERGLEICHENDE PHYSIOLOGIE

BEGRÜNDET VON

K. v. FRISCH UND A. KÜHN

HERAUSGEGEBEN VON

H. AUTRUM
MÜNCHEN

K. v. FRISCH
MÜNCHEN

H. H. WEBER
HEIDELBERG

44. BAND, 4. HEFT

MIT 85 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 11. APRIL 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Z. vergl. Physiol.

Preis DM 36.80

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. H. Autrum, München 2, Zoologisches Institut der Universität, Luisenstr. 14,

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung, Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901 · Fernschreiber 04-61 723

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301 · Fernschreiber 01-83 319

---

44. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 4. Heft

Seite

DeCoursey, P. J., Effect of light on the circadian activity rhythm of the flying squirrel, *Glaucomys volans*. With 11 Figures in the Text 331

Khalil, F., and M. Yanni, Studies on carbohydrates in reptiles. III. Seasonal changes of glycogen content of tissues, and of relative weights of organs of Uromastix aegyptia. With 6 Figures in the Text 355

Khalil, F., and M. Yanni, Studies on carbohydrates in reptiles. IV. Effect of adrenaline on blood glucose and tissue glycogen in Uromastyx aegyptia. With 3 Figures in the Text 363

Kirschfeld, K., Quantitative Beziehungen zwischen Lichtreiz und monophasischem Elektroretinogramm bei Rüsselkäfern. Mit 38 Textabbildungen 371

Lüdicke, M., Über die Aufnahme von radioaktivem Schwefel in die wachsende Vogelfeder nach Applikation von ^{35}S-Methioninlösungen. Mit 27 Textabbildungen 414

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 331—354 (1961)

From the Zoology Department of the University of Wisconsin,
Madison, Wisconsin, U.S.A.* **

EFFECT OF LIGHT ON THE CIRCADIAN ACTIVITY RHYTHM OF THE FLYING SQUIRREL, *GLAUCOMYS VOLANS*

by

PATRICIA J. DECOURSEY

With 11 Figures in the Text

(Received on December 14, 1960)

Table of Contents

	Page
A. Introduction	331
B. Material and Methods	332
C. Results	333
I. Rhythm of Activity in Constant Dark Conditions	333
II. Rhythm of Activity in Continuous Light	340
III. Artificial Day Schedules	341
IV. Light Resetting	345
D. Discussion	349
Zusammenfassung	352
Literature	353

A. Introduction

Recent experiments have shown that a combination of external and internal factors regulates the daily cycle of activity for many animals. Evidence for a precise "biological clock" in animals comes from many sources. The ability of bees to feed at a specific time of day (RENNER 1959), or the capacity of birds (KRAMER 1952, SAUER 1957), fish (HASLER et al. 1958), and several invertebrates (BIRUKOW and BUSCH 1957, PAPI 1955, v. FRISCH 1953) to calculate a specific direction from the position of the sun or stars, regardless of the time of day, presupposes a "sense of time". In addition, the persistence of locomotor activity rhythms

* This research was supported, in part, by Research Fellowships from the American Association of University Women, and the National Science Foundation, and by the United States Air Force through the Air Force Office of Scientific Research of the Air Research and Development Command under Contract No. AF 49 (638)—691.

** I express my gratitude particularly to Dr. KENNETH S. RAWSON and to Dr. JOHN T. EMLEN for their invaluable assistance in conducting the experiments and preparing the manuscript. I am grateful also to the Zoology Department of the University of Wisconsin for the research facilities provided during the course of the investigation, to Mrs. ARDIS STEWART for her capable technical assistance, and to Dr. JÜRGEN ASCHOFF for his stimulating discussions of the research.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. H. Autrum, München 2, Zoologisches Institut der Universität, Luisenstr. 14,

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung, Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901 · Fernschreiber 04-61723

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301 · Fernschreiber 01-83319

---

44. Band

Inhaltsverzeichnis

4. Heft

Seite

DeCoursey, P. J., Effect of light on the circadian activity rhythm of the flying squirrel, *Glaucomys volans*. With 11 Figures in the Text 331

Khalil, F., and M. Yanni, Studies on carbohydrates in reptiles. III. Seasonal changes of glycogen content of tissues, and of relative weights of organs of Uromastix aegyptia. With 6 Figures in the Text 355

Khalil, F., and M. Yanni, Studies on carbohydrates in reptiles. IV. Effect of adrenaline on blood glucose and tissue glycogen in Uromastyx aegyptia. With 3 Figures in the Text 363

Kirschfeld, K., Quantitative Beziehungen zwischen Lichtreiz und monophasischem Elektroretinogramm bei Rüsselkäfern. Mit 38 Textabbildungen 371

Lüdicke, M., Über die Aufnahme von radioaktivem Schwefel in die wachsende Vogelfeder nach Applikation von ^{35}S-Methioninlösungen. Mit 27 Textabbildungen 414

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 331—354 (1961)

From the Zoology Department of the University of Wisconsin,
Madison, Wisconsin, U.S.A.* **

EFFECT OF LIGHT ON THE CIRCADIAN ACTIVITY RHYTHM OF THE FLYING SQUIRREL, *GLAUCOMYS VOLANS*

by

PATRICIA J. DECOURSEY

With 11 Figures in the Text

(Received on December 14, 1960)

Table of Contents

	Page
A. Introduction	331
B. Material and Methods	332
C. Results	333
I. Rhythm of Activity in Constant Dark Conditions	333
II. Rhythm of Activity in Continuous Light	340
III. Artificial Day Schedules	341
IV. Light Resetting	345
D. Discussion	349
Zusammenfassung	352
Literature	353

A. Introduction

Recent experiments have shown that a combination of external and internal factors regulates the daily cycle of activity for many animals. Evidence for a precise "biological clock" in animals comes from many sources. The ability of bees to feed at a specific time of day (RENNER 1959), or the capacity of birds (KRAMER 1952, SAUER 1957), fish (HASLER et al. 1958), and several invertebrates (BIRUKOW and BUSCH 1957, PAPI 1955, v. FRISCH 1953) to calculate a specific direction from the position of the sun or stars, regardless of the time of day, presupposes a "sense of time". In addition, the persistence of locomotor activity rhythms

* This research was supported, in part, by Research Fellowships from the American Association of University Women, and the National Science Foundation, and by the United States Air Force through the Air Force Office of Scientific Research of the Air Research and Development Command under Contract No. AF 49 (638)—691.

** I express my gratitude particularly to Dr. KENNETH S. RAWSON and to Dr. JOHN T. EMLEN for their invaluable assistance in conducting the experiments and preparing the manuscript. I am grateful also to the Zoology Department of the University of Wisconsin for the research facilities provided during the course of the investigation, to Mrs. ARDIS STEWART for her capable technical assistance, and to Dr. JÜRGEN ASCHOFF for his stimulating discussions of the research.

in total darkness, with periods differing slightly from 24 hours, suggests endogenous regulation (ASCHOFF 1958). Similarly, rhythms of insect eclosion (PITTENDRIGH and BRUCE 1957), or of light production (HASTINGS and SWEENEY 1958) in constant environmental conditions also indicate endogenous control.

The fact, however, that in their natural environment, or in artificial day-night schedules animals synchronize their daily cycle of activity to a specific phase of the light-dark cycle, strongly indicates that environmental factors may modify the "clock". Such factors have been called synchronizers, clues, or Zeitgeber. A number of these have been examined, and it is clear that in the great majority of cases light is the primary factor responsible for "resetting" the internal clock.

This study was undertaken to elucidate the mechanism of synchronization by light in a nocturnal rodent. The flying squirrel, *Glaucomys volans*, was used because of its strongly nocturnal habits, and because of the ease with which its activity could be studied under field conditions and in the laboratory with simple automatic recording apparatus.

B. Materials and Methods

This research is based on analysis of the activity patterns of 68 flying squirrels which were trapped locally or bred in this laboratory, and were then maintained in recording cages for periods ranging from several days to approximately 3 years.

For the study of locomotor activity, squirrels were housed individually in recording wheel cages supplied with excess food, water and nesting material. A small nest chamber provided free access to a 12-inch hardware-cloth wheel, mounted on a bicycle axle. An eccentric cam, attached to the axle, closed a microswitch circuit with each revolution of the wheel. Thus a continuous record of the time of activity was made on an Esterline-Angus Operations Recorder which moved paper at a uniform rate of 18 inches per day. The time of events on the record could be read with an error of no more than 2 minutes.

During the study of activity under controlled environmental conditions the wheel cages were kept in several light-tight rooms with no regular daily temperature fluctuations, and with less than 1° C. fluctuation per week. No attempt was made to maintain constant humidity or barometric pressure, or to exclude rhythmic noises. During some of the experiments the wheel cages were placed in a row on the floor of dark room A or B. In other experiments each cage was kept in a light-tight cabinet with individual lighting and ventilation systems. No differences in activity patterns of squirrels in the two systems were detected.

Artificial lighting schedules were provided by incandescent bulbs placed 9 feet above the cages in rooms A and B, or by a 12-inch tubular incandescent light in the top of each cabinet. Light schedules were maintained by Aemco time clocks; the desired light intensity was provided by a voltage regulator in series with each light. A calibration curve for the intensity of the lights at each voltage was made with a McBeth Illuminometer.

The isolation rooms were entered at irregular intervals for care of animals and equipment. About once a week the animals were fed a mixture of seeds, fresh fruit and vegetables, and several vitamin supplements. Most cages operated for months at a time without mechanical failures, and thus were disturbed only for feeding,

for changing the dropping papers about once a month, or for washing the units about once every 3 months. The disturbances caused by entering rooms A and B, or by opening the cabinets are indicated on all activity record figures except Fig. 10, whether they occurred with light or in total darkness.

By aligning the consecutive daily records of an individual it was possible to graphically portray the complete activity data of each squirrel over extended periods of time. The rolls of record were first cut into exact 24-hour lengths starting at the 12 o'clock noon indicator (Fig. 5). The daily strips for each animal were then mounted directly under each other in chronological order, and these were finally photographed and reproduced in small size.

C. Results

1. Rhythm of Activity in Constant Dark Conditions

The study of activity rhythms of flying squirrels on a natural daylight schedule showed the synchrony of the start of daily activity with a particular light intensity shortly after sunset, and the continuance of activity during darkness (DECOURSEY 1960b), but did not reveal whether clues of the external environment, or a time sense was the primary regulator of activity.

To test whether an endogenous rhythm existed, the activity patterns of squirrels were recorded for periods ranging from several days to 113 days duration in continuous darkness at a uniform temperature. These conditions, described below, will be referred to as "constant dark conditions". Total darkness was maintained in rooms A and B except for feeding and maintenance disturbances. These interruptions with a dim light were made at irregular intervals during that part of the animal's daily cycle when light was shown to have no effect on the activity rhythm (see section IV). Squirrels in the cabinets could be fed in the totally darkened room and thus could be maintained for several months at a time without any light interruptions. No difference could be seen with the two methods.

Under these conditions of constant darkness, all squirrels which used the wheels continued to alternate an active period with an almost totally inactive period about every 24 hours. When the consecutive 24-hour records of an individual are mounted in a vertical series, the persistence of a strong cycle of activity is particularly clear. Some "strong runners" (Figs. 1, 2) ran vigorously in the wheels for as long as 14 hours of each daily cycle. Other "weak runners" used the wheels to a very slight extent, even after several weeks or months (Fig. 3). With these weak runners a rhythm of activity was clearly evident but it was not possible, in most cases, to make quantitative measurements of the characteristics of the rhythm. These squirrels, therefore, were not used for further experiments (see below). A few "non-runners" did not use the wheels at all; these were also discarded.

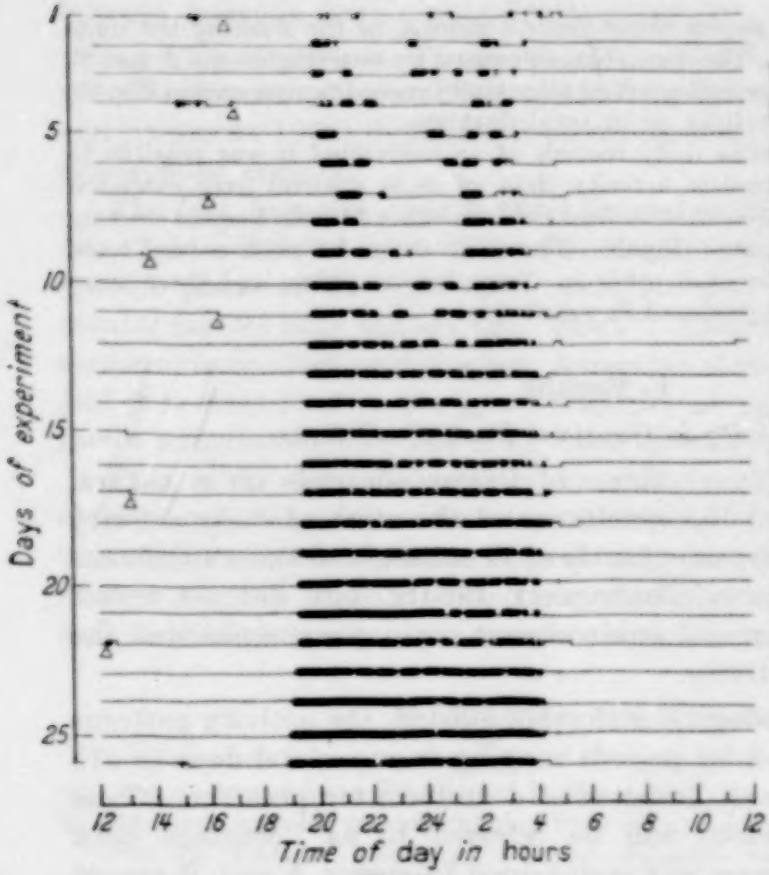


Fig. 1

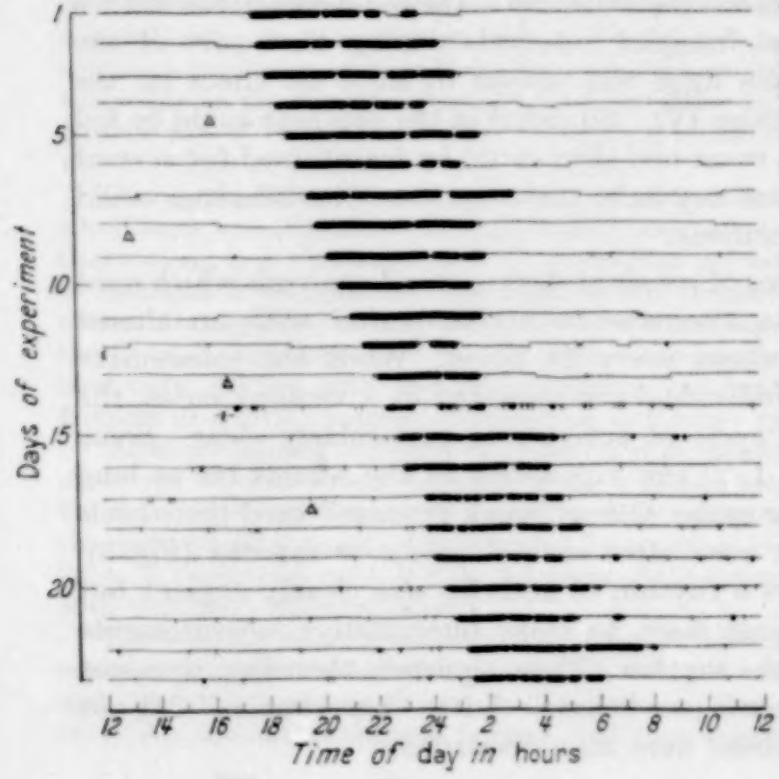


Fig. 2

Several factors seemed responsible for differences between strong and weak runners. One third of the squirrels tested (35% of the females and 32% of the males) were strong runners, but the better runners were females. In some cases the lack of running appeared to be an inhibitory effect of darkness, for when several non-runners were returned to natural light conditions some of them ran well in the wheels. Even with the strong runners, the amount of running showed much irregular variation. Flying squirrels new to the wheels often showed poor or erratic activity for several days (Fig. 1). Frequently the amount of activity of a squirrel

Fig. 1. Activity record of flying squirrel No. 131 in constant dark conditions, showing an endogenous rhythm of 23 hours and 58 minutes ± 4 minutes. Open triangles indicate the time of feeding with a dim light. Revolutions of the wheel are shown as deflections of the baseline. Solid blocks indicate overlapping pen marks caused by rapid turning of the wheel

Fig. 2. Activity record of flying squirrel No. 125 in constant dark conditions, showing an endogeneous rhythm of 24 hours and 21 minutes ± 6 minutes. Sigma symbol indicates equipment repair with the horizontal line showing the duration of the dim ligth disturbance. For further explanation see Fig. 1

in the wheel was abruptly reduced, and remained at a low level for several weeks or months. In a few cases this was related to general health, for after long periods in the wheels in constant darkness, some squirrels showed prominent thinning of the hair, or a partial paralysis of the hind legs; with some of these a subsequent increase in the vitamin supplements restored running to its former level. In a number of instances squirrels ran very poorly during the breeding season from February to August, but no regular fluctuation in the amount of running,

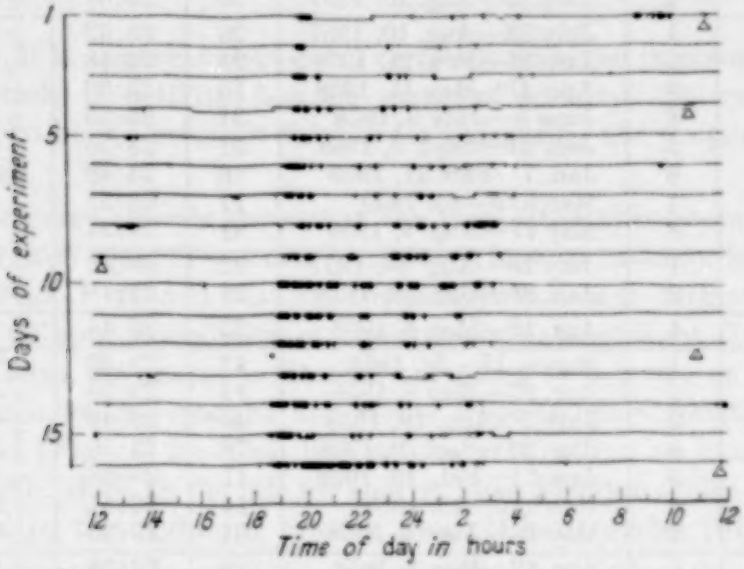


Fig. 3. Activity record of "weak runner" No. 126 in constant dark conditions. Symbols as in Fig. 1

comparable to estrous running (SLOANAKER 1925) was detected. Accidental food or water lack caused almost continuous running during the period of deprivation, followed by reduced activity for several days after food and water were restored. In some cases no adequate reason for drastically lowered levels of activity could be found. In view of these facts it seemed probable that the selection of strong runners as subjects for study was merely a selection for those animals that used the measuring device best, not a selection of animals having peculiar activity characteristics (also see below).

With strong runners, detailed analysis of the pattern of activity was possible (Fig. 1, 2). One of the most striking features of the active phase was the abruptness with which it began. After a long period of inactivity a squirrel suddenly started turning the wheel at a very rapid rate. The duration of the active running varied from a few hours to as much as 14 hours. The running of some animals was nearly continuous, for others the running was alternated with frequent short rest periods, and with still others, two or more distinct peaks of running during the active phase were seen. Running at the end of the active phase was often

Table 1. *Summary of activity records of flying squirrels in constant dark conditions.* See text for further explanation

A. Strong runners.

Animal	Sex	Test period	Date	No. days	Av. cycle length hrs.: min.	Std. Dev. min.	Std. Error min.
108	♀	1	July 28—Aug. 10, 1957	14	23:46	±4	±1
109	♀	1	July 31—Aug. 10, 1957	11	23:58	±5	±2
111	♂	1	July 8—17, 1957	10	23:59	±9	±3
		2	July 22—Aug. 10, 1957	20	23:57	±5	±1
115	♀	1	July 22—Aug. 10, 1957	20	23:52	±4	±1
		2	Jan. 28—Feb. 21, 1958	25	23:48	±9	±2
		3	Apr. 27—May 11, 1958	15	23:50	±8	±2
		4	June 5—July 5, 1958	31	23:55	±5	±1
		5	July 21—Sept. 9, 1958	51	23:55	±6	±1
		6	Jan. 7—Feb. 11, 1959	16	23:48	±9	±2
		7	March. 5—15, 1959	11	23:51	±8	±3
		8	May 17—Aug. 4, 1959	81	23:31	±7	±1
119	♂	1	July 20—Aug. 10, 1957	22	23:42	±7	±2
		2	Jan. 28—Feb. 19, 1958	23	23:48	±6	±1
122	♀	1	Apr. 12—May 4, 1958	23	23:44	±9	±2
123	♀	1	March. 17—28, 1958	12	23:52	±7	±2
		2	Apr. 27—May 8, 1958	12	23:56	±3	±1
		3	July 2—Aug. 19, 1958	49	23:49	±4	±1
		4	Aug. 23—Sept. 9, 1958	18	23:59	±3	±1
		5	Jan. 31—Feb. 10, 1959	11	23:58	±3	±1
		6	March. 5—15, 1959	11	23:51	±2	±1
		7	May 18—Aug. 4, 1959	81	23:33	±6	±1
125	♂	1	Apr. 12—May 3, 1958	22	23:59	±5	±1
		2	June 21—July 13, 1958	23	24:21	±6	±1
		3	Aug. 14—30, 1958	17	24:05	±6	±1
		4	Sept. 25—Oct. 13, 1958	19	23:51	±5	±1
130	♀	1	Aug. 29—Sept. 16, 1958	19	23:56	±4	±1
		2	Sept. 17—Oct. 1, 1958	15	23:57	±2	±1
		3a[1]	Apr. 10—May 6, 1959	27	23:19	±5	±1
		3b[1]	May 7—19, 1959	14	23:26	±3	±1
		4	May 28—June 10, 1959	14	23:32	±2	±1
		5	June 11—Aug. 4, 1959	56	23:38	±6	±1
131	♀	1	Aug. 24—Sept. 17, 1958	25	23:58	±4	±1
		2	Sept. 18—Oct. 1, 1958	14	23:59	±3	±1
		3	Oct. 22—Nov. 2, 1958	11	24:06	±8	±3
132	♂	1	Sept. 18—Oct. 1, 1958	14	23:50	±4	±1
		2	Jan. 17—Feb. 2, 1959	17	22:58	±8	±2
		3	May 16—Aug. 4, 1959	83	23:28	±7	±1
134	♂	1	Sept. 2—Oct. 5, 1958	34	23:58	±6	±1
136	♀	1	Sept. 14—Oct. 2, 1958	19	23:49	±7	±2
		2	Dec. 14—Jan. 20, 1959	39	23:29	±6	±1
		3	Feb. 10—24, 1959	15	23:50	±7	±2
		4	March. 16—July 6, 1959	113	23:59	±15	±1
137	♂	1	Oct. 24—Nov. 10, 1958	18	23:50	±8	±2
138	♀	1	Nov. 13—21, 1958	11	23:50	±5	±1
		2	Dec. 25—Jan. 11, 1959	18	23:46	±9	±2
143	♀	1	Dec. 9—Jan. 12, 1959	35	23:56	±3	±1
		2	May 15—Aug. 4, 1959	82	23:50	±5	±1

Table 1 (continued)

B. Weak runners.

Animal	Sex	Test period	Date	No days	Av. cycle length hrs.: min.	Std. Dev. min.	Std. Error min.
129	♀	1	Oct. 24—Sept. 7, 1958	15	23:40	±7	±2
160	♀	1	Dec. 3—21, 1959	19	23:41	±6	±1

[1] Period divided for analysis by inspection at the point of most prominent spontaneous shift.

sporadic. It is apparent that great variation occurred in certain features of the pattern of activity, but the "onset of activity" (RAWSON 1956b) appeared to be a consistent marker for measuring the properties of the time sense.

The activity records show that the time interval between successive onsets for each squirrel was nearly constant in most cases for long periods of time (Figs. 1, 2), and that the rhythms in constant darkness differed from the 24-hour periodicity of squirrels in natural light (DECOURSEY 1960b). Thus the marks indicating the onset of activity on successive days form a nearly straight line whose slope is characteristic for each test period (Figs. 1, 2). This line will be vertical for an exact 24-hour cycle length, slope to the left for shorter than 24-hour cycles (Fig. 1, 3), and slope to the right for greater than 24-hour cycles (Fig. 2).

A summary of the constant dark periods of all strong runners tested for 10 days or longer up to August 4, 1959 included 48 test periods for 16 flying squirrels (Table 1). Omitted from this list are approximately 5 test periods in which animals were in poor health, and the low level of activity made a precise analysis of the data impossible. Excluded from analysis, also, are the 14-day periods immediately following an "advancing light shock", where a constantly changing slope was experimentally induced (see section IV). The average cycle length for a test period ranged from 22 hours and 58 minutes to 24 hours and 21 minutes. In the great majority of cases the average cycle length was less than 24 hours. A frequency histogram of average cycle lengths shows that the most common class was 23:50—23:59 (Fig. 4). The distribution of the daily cycle length values about the test period mean did not differ significantly from a normal distribution, and thus the fact that the majority of these means differed from an exact 24-hour periodicity by more than sampling error is indicated by the standard error values (Table 1).

Because of these deviations of the average cycle lengths from 24 hours, the squirrels gradually drifted out of phase with the day-night changes of the external world, and also drifted out of phase with other squirrels

in the same room. Thus, while the squirrels in natural light conditions always started activity shortly after sunset, the squirrels kept in constant darkness for several weeks might start activity at any time (Fig. 5). The deviations of the activity cycles from 24 hours, and the resultant loss of synchronization will be discussed later as evidence for the endogenous nature of rhythms that persist in darkness and constant temperature.

A comparison of the cycle lengths of an individual squirrel in widely separated test periods indicated the relative stability of its endogenous timer (Table 1). For some animals the average cycle lengths differed by only a few minutes, even though the animal had been exposed to constant light, artificial day schedules or natural daylight in the time between test periods. Other squirrels showed highly divergent values for different test intervals; changes in average cycle length of as much as an hour occurred. "Spontaneous shifts" in frequency of the internal timer (RAWSON 1956a) could account for such differences. While most squirrels did not show such shifts during a single test period, even in very long sojourns in constant darkness, it is possible that spontaneous shifts did occur during the course of intervening experiments. Certain light conditions also frequently caused small shifts in frequency of the activity cycle (see section IV), and this is probably the reason for most of the differences between constant dark test periods of an individual.

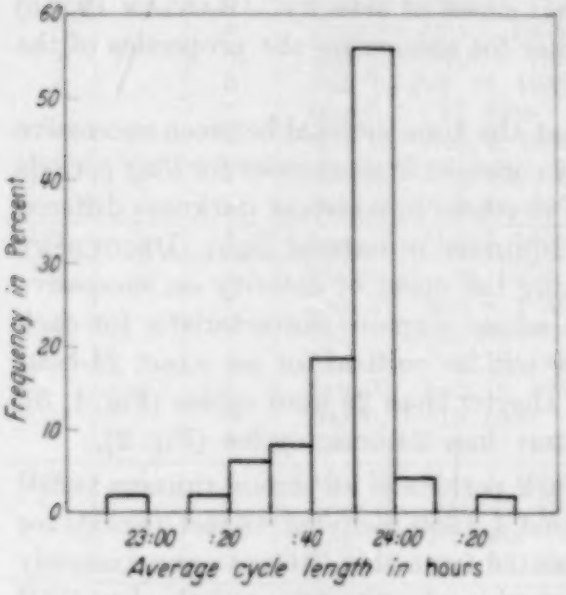


Fig. 4. Frequency distribution of the average cycle length for constant dark test periods of 10 or more days for all strong runners. For further explanation see text

Examination of the times between successive onsets in a single test period indicated that the squirrels were not perfect time pieces; small deviations of the daily values from the average were seen. A measure of this accuracy of a squirrel in marking off a characteristic period of time is expressed by the standard deviation of the test period values. In the 48 test periods the standard deviations ranged from ± 2 minutes to ± 15 minutes (Table 1). It was evident that some flying squirrels were more accurate than others. Such errors in accuracy expressed as a coefficient of variation indicate a very high degree of precision ranging from 0.14% to 1.04%.

With the weak runners a partial analysis of the rhythm of activity was possible. Like the strong runners they continued in constant

darkness to alternate a period of activity with a period of rest approximately every 24 hours. The drift of the activity period with respect to the solar day was also evident (Fig. 3). Because of the low level of activity, however, a sharply demarcated onset of activity was often lacking, and in most records where only an estimate of onset could be made it was not feasible to calculate the precise length or the accuracy of the rhythm. For a few of the weak runners it was possible to calculate cycle length, standard deviation, and standard error of the rhythm

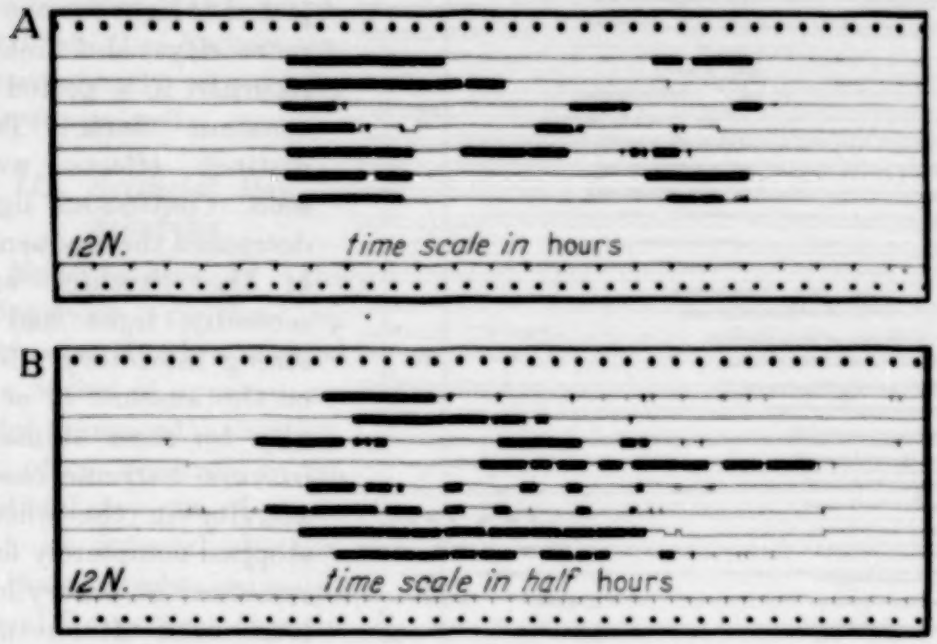


Fig. 5. Two 24-hour sections of Esterline-Angus record showing the activity of 7 squirrels synchronized to the time of sunset in natural light conditions (A), and of 8 squirrels out of phase with the time of sunset after several weeks in constant dark conditions (B)

exactly as for the strong runners. The values fell in the range of the strong runners indicating that no basic difference existed between the rhythms of the two groups (Table 1).

Since rhythmic noises were not eliminated from the dark rooms, it was necessary to investigate their effect upon the activity of the squirrels. In the constant dark rooms squirrels in close proximity to each other appeared to have no effect on each other; each maintained its characteristic period length. After a few days in constant darkness two squirrels, who were separated from the main colony by only a thin pressboard wall, rapidly lost synchronization with the colony kept in natural daylight. Building noises were another source of rhythmic clues which could not be eliminated from the rooms. The ringing of class bells at regular intervals, the crowing of chickens at dawn in an adjacent animal room all gave strong potential noise clues. Electrical buzzers ringing regularly 10 minutes each day for several weeks had no effect. In all cases the flying squirrels maintained their individual activity rhythms.

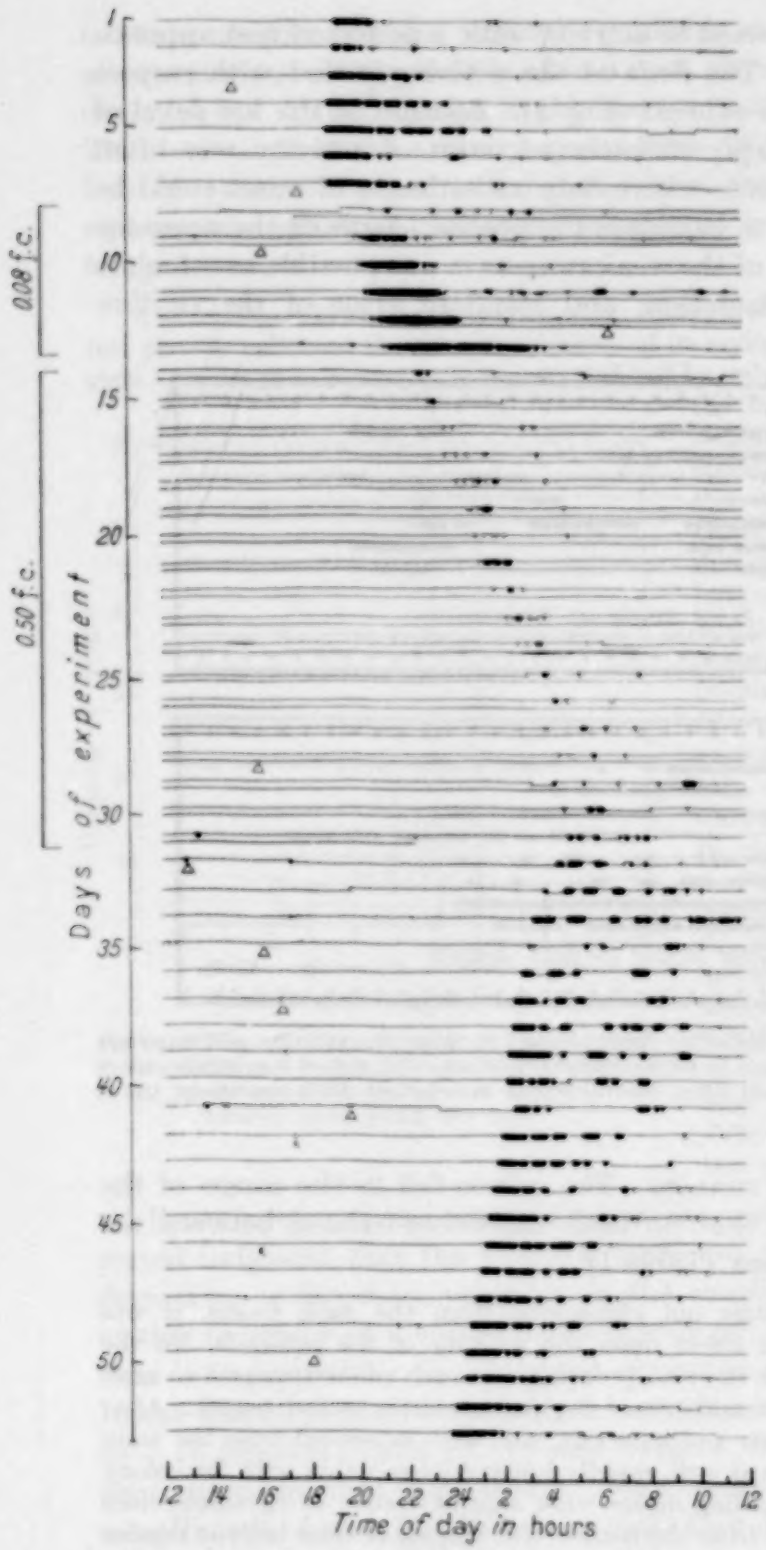


Fig. 6. The effect of continuous light of two intensities on the activity rhythm of squirrel No. 123. The horizontal line under a day's record indicates the light schedule. Symbols as in Figs. 1 and 2. For further explanation see text

II. Rhythm of Activity in Continuous Light

In order to determine the effect of continuous light on the rhythms, several squirrels were kept in a control period of constant darkness for a few days, then subjected to light for one or more days, and finally returned to a period of constant dark. Two distinct effects were seen. Continuous light decreased the frequency of the rhythm, and secondly, light had a strong inhibitory effect on the amount of activity for most animals; in some extreme cases, activity in the wheels stopped completely and remained at a very low level, even after return to constant dark. The inhibitory and delaying effects of one 24-hour period of continuous light are seen in the upper part of the synchronization experiments (Figs. 7, 8).

A few squirrels continued to show good activity in continuous light. With such animals the effects of continuous light could be followed for several weeks. After the change from darkness, activity started at

a later time each day, and the lengthening of the activity cycle to more than 24 hours was apparent (Fig. 6). As the light intensity was increased the frequency of the rhythm decreased. The increasing degree of inhibition can also be seen in this graph, until at the highest intensity nearly all activity was suppressed.

III. Artificial Day Schedules

Modifications of the endogenous rhythm by light were further studied in a series of experiments which measured the responses of a squirrel to an artificial day out of phase with its internal rhythm.

Six squirrels were maintained for several days in a control period of constant darkness. The animals were then exposed to 24 hours of light for an unrelated test (see section II). After another two days of

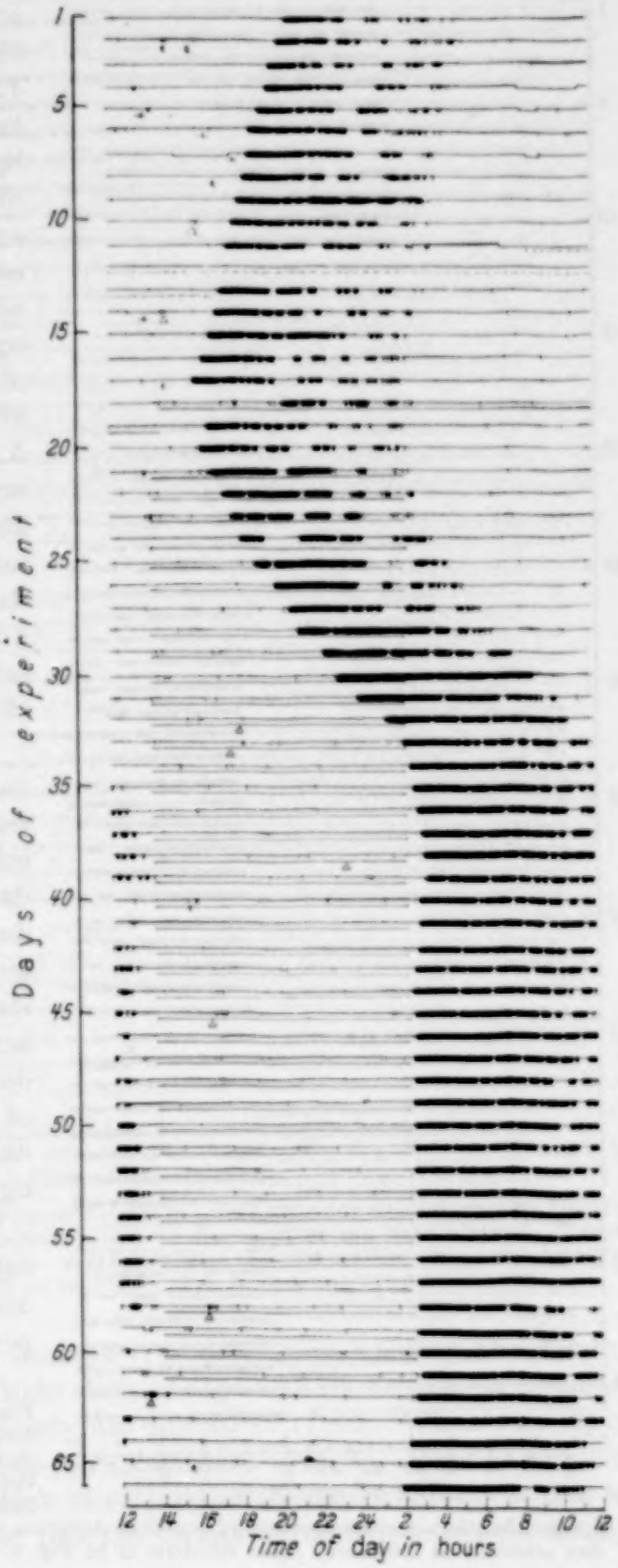
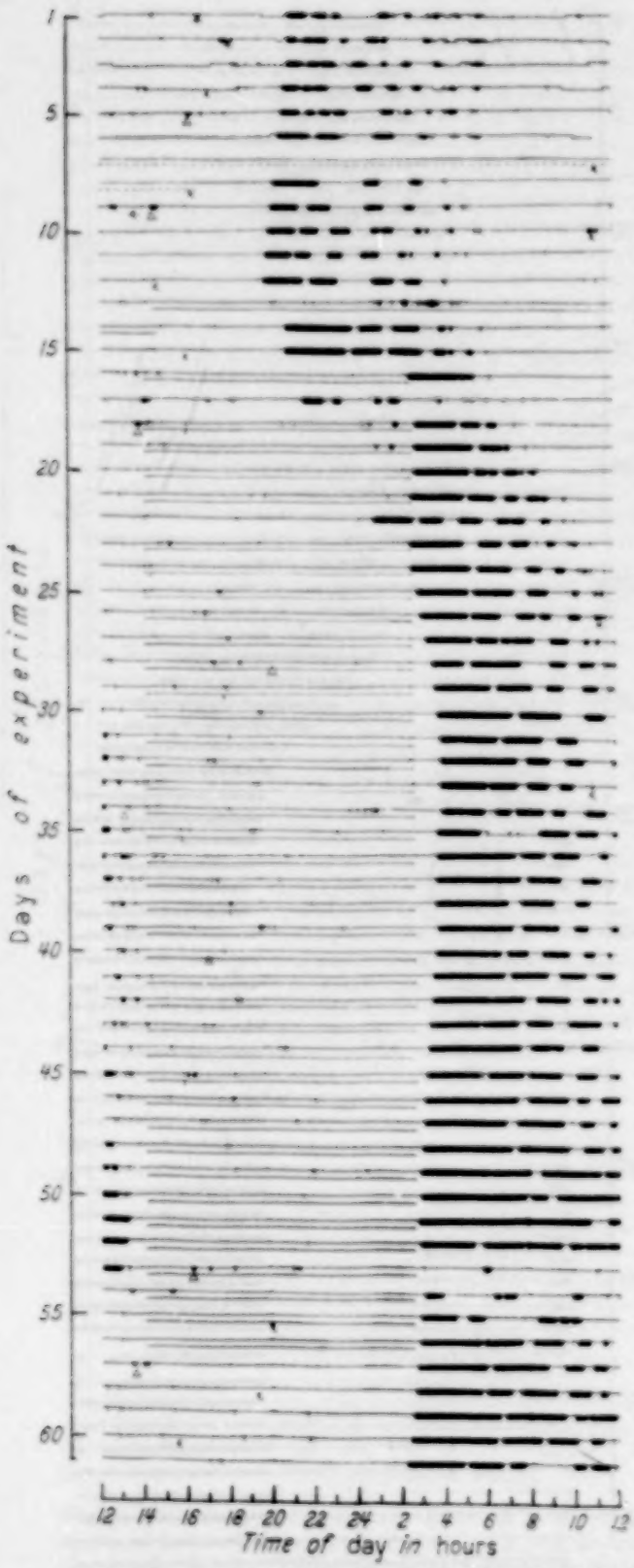


Fig. 7. Synchronization of flying squirrel No. 119 to an artificial day schedule on days 21—61 with light interrupting the active period at the start of the light schedule. A control period of constant darkness preceded and followed the artificial day schedule as indicated. Light intensity equalled 1.0 foot candle. The horizontal line under a day's record indicates the light schedule; a dotted line indicates apparatus failure with consequent loss of record. Other symbols as in Figs. 1 and 2. For further explanation see text



constant darkness, an artificial day of 12 hours light: 12 hours darkness was maintained for several weeks. The light was turned off and on abruptly by an electric timer, and the light period, in all cases, interrupted part of the active running period of each squirrel. A final control period of constant dark followed the artificial day schedule. For 5 squirrels one day of the artificial day schedule was kept dark in order to test inhibition effects (Fig. 7 — day 27). For the last squirrel 2 days during the artificial day schedule were kept dark (Fig. 8 — days 17 and 22).

All 6 squirrels showed endogenous rhythms of less than 24 hours in the initial control period of constant darkness. During the artificial day schedule 3 squirrels acted as if in continuous light. A stepwise delay of the start of activity to a later time each day occurred, until the onset of activity came to lie in the dark period shortly after the light was turned off (Fig. 7).

With the 3 remaining squirrels little or no activity occurred during the light period of the artificial day.

Fig. 8. Synchronization of flying squirrel No. 115 to an artificial day schedule on days 16—56 with light interrupting the active period at the start of the light schedule. Light intensity equalled 1.0 foot candle. A control period of constant darkness preceded and followed the artificial day schedule as indicated; other symbols as in Fig. 7. For further explanation see text

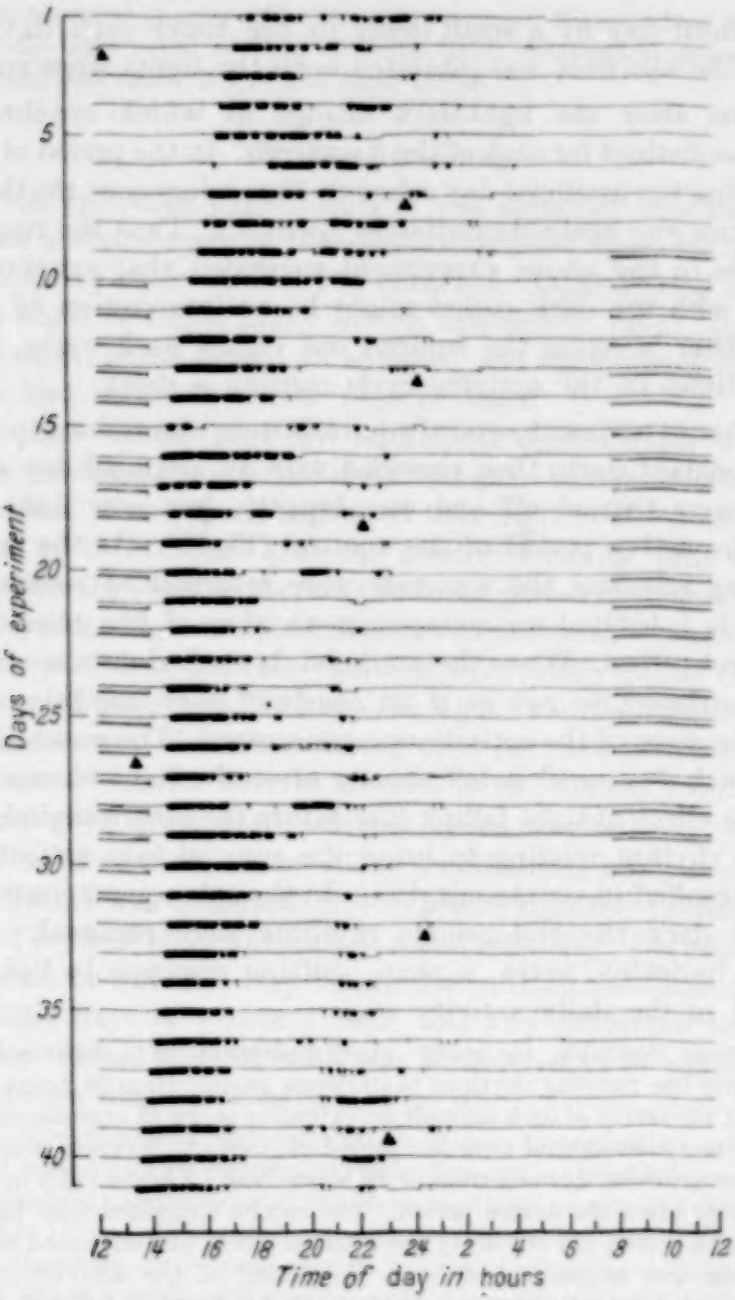


Fig. 9. Synchronization of flying squirrel No. 123 to an artificial day schedule on days 10—32 without light interrupting the active period at the start of the light schedule. Light intensity equalled 0.5 foot candles. Solid triangles indicate feeding times in complete darkness; other symbols as in Fig. 7. For further explanation see text

For these animals it was necessary to determine whether the abrupt start of activity at the light-dark change was an exogenous response to the light change or merely an inhibition effect. When two days of the artificial day schedule were kept dark (Fig. 8 — days 17 and 22), it became clear that the lack of activity of the latter three was due to inhibition by light. These, like the former animals were synchronizing

to the artificial day by a small delay in the timer each day, but the running of the squirrels was inhibited until the lights were turned off.

The time after the light-dark change at which synchronization occurred was distinct for each of the 6 squirrels. In the period of constant dark following the artificial day schedule the endogenous rhythm of less than 24 hours was again immediately apparent. Thus the responses of the squirrels in the above experiment suggested that synchronization of activity with the dark period might be an interraction of an endogenous rhythm bringing the squirrel out earlier each night, and light at certain times in the activity cycle causing a delay.

In another experiment several squirrels were maintained in a control period of constant dark, then provided with an artificial day such that the lights were turned off and on abruptly, but now light did not interrupt the active period of the squirrel (Fig. 9). At the end of the artificial day schedule the squirrels were returned to constant dark. The squirrels exhibited an endogenous rhythm of less than 24 hours in the control period. When the artificial day schedule was started the squirrels continued to act as if in constant dark conditions, for no change in the slope of the activity onsets occurred. The onset of activity advanced each day until it fell shortly after the light change. There, the delaying effect of light falling just before the active period, and the endogenous rhythm tending to bring the squirrel into activity earlier each night resulted in synchronization. In the subsequent control period of constant dark the endogenous rhythms were resumed. Such an experiment indicates, again, a phase shifting response to light during only a part of the daily activity cycle.

It was next desirable to study synchronization to a light schedule for squirrels having free running rhythms in darkness greater than 24 hours in length, but because of the rarity of such animals an extensive series of experiments was not possible. For one such animal a control period of constant darkness was provided followed by an artificial day schedule of 19 hours dark : 5 hours light in which the light fell shortly after the active period. The results suggested that light at the end of the active period did not delay the internal clock, but advanced it, and that synchronization was accomplished by a shortening of the activity rhythm to 24 hours. A fixed phase relationship was maintained not with the dusk light change, but with the dawn light change (DECOURSEY 1960b).

Further synchronization experiments were repeated with artificial days more closely resembling the natural day. Following a control period of constant dark, 6 squirrels were provided with an artificial day schedule of 12 hours light : 12 hours dark, but with a dusk period during the last half hour of the light period. During the dusk period the intensity of the light was changed linearly from the day to the night condition. A half hour dawn was similarly provided during the first half hour of the light period. Responses were very similar to the experiments with abrupt light changes. Those squirrels whose active periods were not interrupted by the light behaved as if in constant dark, and started activity earlier each day according to their free-running rhythms in darkness until

stabilization occurred shortly after the light change. Those whose activity was interrupted by light acted as if in constant light, delaying in stepwise manner each day until the onset fell in the dark period.

IV. Light Resetting

From the preceding experiments it was apparent that the effect of light on the activity cycle of *Glaucomys* depended upon the part of the animal's activity cycle at which it occurred. Light during a squirrel's subjective night caused a delay in the subsequent onset; light at the subjective dawn phase caused an advance, and light during the inactive day phase had no effect on the time of onset.

Other observations provided additional evidence for a rhythmic response to resetting the internal clock by light. Several hundred feeding disturbances of the squirrels indicated that light in the inactive period from about 12 to 14 hours after the start of running until about 1 or 2 hours before the start of the next running period had no effect on the activity rhythm (Figs. 1, 2), while light in the active period caused a delay. The possibility that the squirrels were asleep during the inactive day phase, and merely did not see the light, was then tested. Several of the squirrels were disturbed during their inactive period by rotating them in their wheels for several minutes in the lighted room; no effect on the timing of subsequent activity cycles resulted.

On the basis of these observations a systematic analysis of the light response rhythm was undertaken by exposing squirrels to short, isolated intervals of light of standard duration and intensity. The expected time of onset could be calculated by extrapolation from the times of onset on the preceding days of constant dark, and any difference between the expected and actual time of onset was considered to be caused by light (method shown diagramatically in Fig. 10).

In such measurements and calculations it was important to select the few animals best suited for this experiment. Only those animals which ran consistently well over periods of months or years, which showed high accuracy of the endogenous rhythm (Table 1), and which were not strongly inhibited by the light shocks were chosen. Furthermore, only those animals were used whose cycle length continued to fluctuate about a single mean in constant darkness, for only with these could the onset of activity be accurately predicted. One representative test period from Table 1 was analyzed with the chi square test, and the distribution of daily values about the mean did not differ significantly from a normal distribution. For all such typical animals it appeared feasible to calculate the expected time of onset, while animals with frequent unpredictable spontaneous shifts in cycle could not be used. Further selection was made for those animals which gave highly reproducible responses, since the small number of suitable animals available, and the length of time necessary to accumulate data necessitated using a single test at most points in an animal's cycle. The variation in response of several squirrels to identical test shocks was studied (Table 2) and with the few squirrels picked for the experiment single tests appeared adequate. By this selection of the most suitable animals it

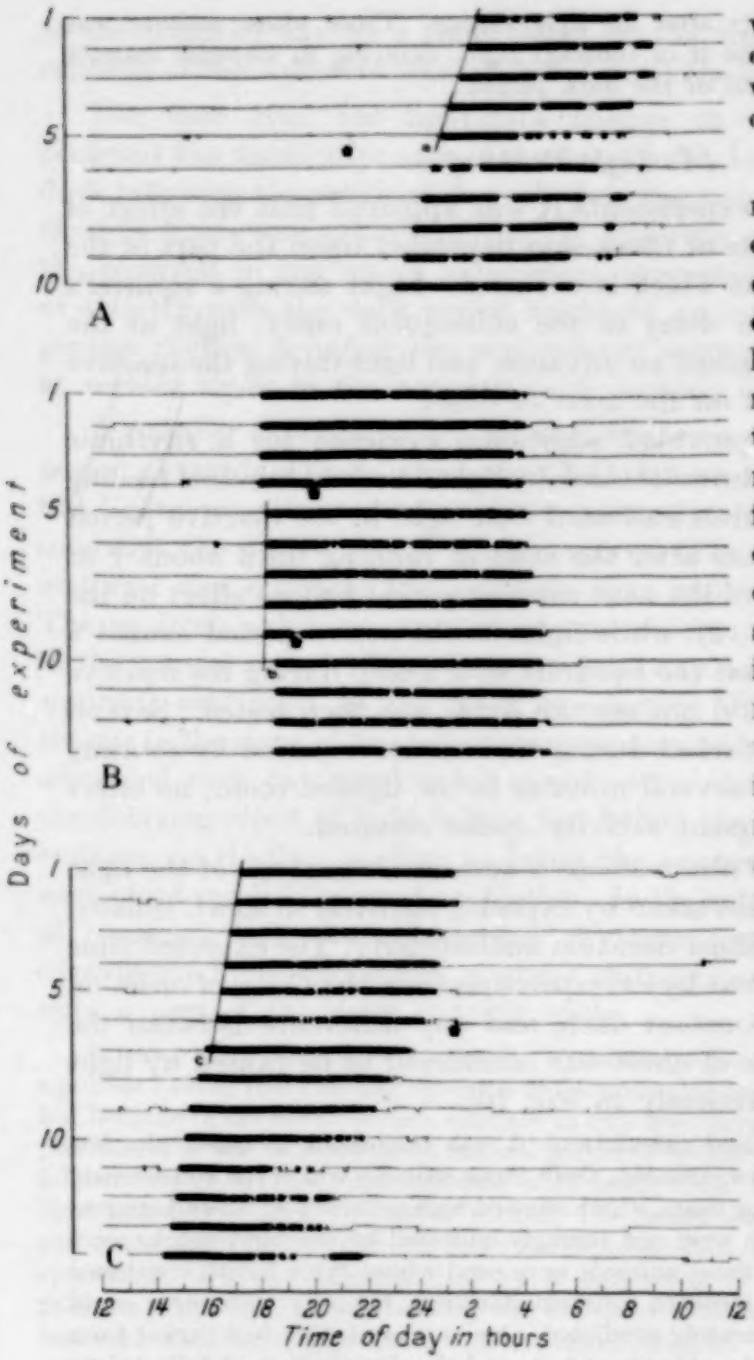


Fig. 10. Effect of light shocks on the activity rhythm. A. Light shock at 3¼ hours before the onset of activity, having no effect on subsequent cycles (a). B. Light shock at 1 hour after the onset of activity causing a delay (b). C. Light shock at 9 hours after the onset of activity causing an advance. Each arrow indicates a 10-minute light shock having an intensity of 0.5 foot candle. For further explanation see text

was possible to measure the effects of single light stimuli with an expected error of only a few minutes.

The squirrels were maintained in constant darkness in individual cabinets, and were then exposed to a standard light shock at intervals ranging from a few days to several weeks. Preliminary tests with different intensities and durations of light indicated that 10-minute shocks of 0.5 foot-candle intensity were suitable for testing. This light was dim enough to avoid inhibition during ensuing activity periods, but still gave an easily measurable response; ten-minute shocks covered only a relatively small segment of each cycle. Since light in some cases clearly caused small permanent shifts in the frequency of the activity cycle (see last paragraph of this section), the days of constant darkness immediately preceding the light shock were used as the control period for calculating the expected time of onset.

The testing of animals indicated a daily cycle of light responsiveness, related to the daily rhythm of locomotor activity (Figs. 10, 11). Maximal

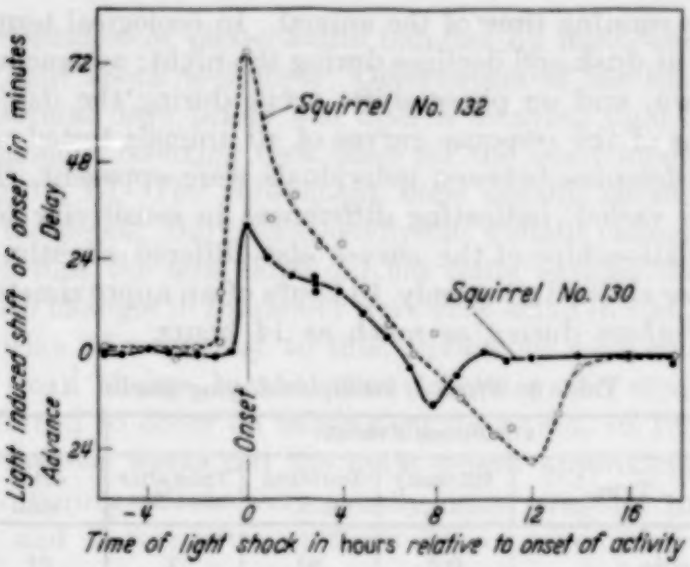


Fig. 11. Daily rhythm of resetting by light for 2 flying squirrels, No. 130 and No. 132. Phase shifts of the activity rhythms induced by 10-minute light shocks are graphed with respect to the number of hours before or after onset when the light shock started

delay occurred at the onset of running. Delaying responses then declined gradually until about 7 hours after onset, where a transition was made to a short 3—5 hour region of advancing phase shifts. No effect of light was seen during the remainder of the inactive phase, until an hour or two before the onset of running. It should be noted that some animals ran in the wheels for only a few hours after onset, and with these animals the end of running and the end of the light responsive period did not coincide. Therefore the term "active phase" in the strict sense refers to the period starting just before onset and extending through the approximately 12-hour period of light responsiveness; it is not restricted

Table 2. *Responses of several squirrels to identical test conditions*

Squirrel No.	Conditions			Delay response min.	Std. dev. in min.
	Intensity f. c.	Duration min.	Time of shock after onset (hrs.)		
123	0.5	10	3	a. 58 b. 62 c. 55 d. 44	±7.7
130	0.5	10	3	a. 18 b. 18 c. 19 d. 25	±3.4
131	0.5	10	2	a. 24 b. 22	±1.4
134	0.5	10	3	a. 41 b. 55	±9.9
136	0.5	10	2	a. 40 b. 35	±3.5
	0.5	10	3	a. 26 b. 35	±6.4
	0.5	10	4	a. 36 b. 24	±8.5

to the active running time of the animal. In ecological terms maximal delay occurs at dusk and declines during the night; advancing responses occur at dawn, and no phase shifts occur during the daylight hours.

The forms of the response curves of all animals tested were similar but small differences between individuals were apparent. The heights of the peaks varied, indicating differences in sensitivity to resetting. The time relationships of the curves also differed slightly, with some showing phase shifts during only 10 hours of an approximately 24-hour period, and others during as much as 14 hours.

Table 3. *Effect of multiple delaying shocks*

Squirrel No.	Conditions of shocks				Average delay min.	Calculated sum min.
	Type	Intensity f. c.	Duration min.	Time after onset (hrs.)		
130	Single	0.5	30	3	21	—
	Single	0.5	10	1	24	
		0.5	10	2	19	
		0.5	10	3	20	—
		0.5	10	4	17	
	Multiple . . .	0.5	10 each	1 3 4	47	54
	Multiple . . .	0.5	10 each	2 3	29	37

Such a light response rhythm might at first seem capable of giving a squirrel conflicting instructions in circumstances where light fell on both advancing and delaying parts of the rhythm. Theoretically the opposing signals could be additive, or only one could be effective. In order to demonstrate the roles of advancing and delaying shocks in determining phase shifts, a series of experiments was carried out with one highly accurate animal whose light response curve was known (Fig. 11). The average delay response was first determined for a light shock starting 3 hours after onset. The standard deviation of ± 3.4 minutes for this test series (Table 2 — No. 130) gives an estimate of the variability to be expected from this animal. The response was then determined at 9 hours after onset where maximal advancing occurred. Finally, tests were made in which two light shocks were given during a single activity period: the first light shock at 3 hours after activity onset and the second at 9 hours after onset. While the data are limited in extent they suggest that resetting by delay determined the response when a conflict between advancing and delaying signals occurred. In contrast to this was the effect of multiple delaying shocks during the same activity cycle; with 10-minute shocks separated by at least 50 minutes of darkness, the light induced delays appeared to be cumulative in effect (Table 3).

The persistence of phase shifts induced by light was also studied using the light shock technique. Observation of the times of activity onset for several days before and after a delaying light shock showed that a prominent resetting took place for the onset following the light shock (Fig. 10, B). The subsequent slope usually paralleled the slope preceding the shock. Only occasionally did a slight change in frequency occur, such that the new slope did not quite parallel the old one. If present, such changes in frequency were very small in comparison to the resetting delay. In contrast to this, advancing light shocks caused a relatively small change in the onset following the shock, but phase shifts continued to occur on subsequent days (Fig. 10, C); only after a period of days or weeks did the cycle length approximate its former value. Shortening effects were usually more irregular than the delay responses, and it was often difficult to see when they disappeared.

Discussion

Phase control of daily activity is brought about in the flying squirrel by the interaction of an endogenous activity rhythm of approximately 24-hour frequency and a related rhythm of responsiveness to light (DECOURSEY 1960a). This concept has developed from the contributions of several workers. ASCHOFF (1954, 1958) proposed that many regularly recurring "time-giver" cycles of the environment could modify an endogenous rhythm. PITTENDRIGH and co-workers (1957—1960) hypothesized that a single light stimulus could induce a phase shift in an endogenous activity rhythm. RAWSON (1956a) pointed out that an endogenous daily rhythm of activity could be modified by light at specific times in the rhythm.

The experimental evidence is now rapidly accumulating in a large variety of animals for the existence of an endogenous rhythm of activity and a daily rhythm of light responsiveness. Daily rhythms which persist in constant darkness have been demonstrated in animals from the single-celled *Paramecium* to the complex mammals (reviews in ASCHOFF 1958, HARKER 1958, BÜNNING 1958, PITTENDRIGH and BRUCE 1959).

There has been some question whether such persistent rhythms are truly endogenous, for the possibility exists that animals can perceive some as yet unknown exogenous clue (WEBB and BROWN 1959, BROWN 1959a and b). The persistent rhythms of animals in constant conditions of light and temperature have been considered endogenous because of their characteristic differences from an exact 24-hour periodicity (ASCHOFF 1958, DECOURSEY 1959, EHRET 1959a, HASTINGS and SWEENEY 1958, HOFFMANN 1960, JUSTICE 1960, PITTENDRIGH and BRUCE 1959, RAWSON 1956a, ROBERTS 1960). It is difficult to reconcile such observations with the hypothesis of an exogenous regulator of 24-hour periodicity. Such a concept as "autophasing" (BROWN 1959a) demands either a rhythm of sensitivity which must ultimately be endogenously determined (ASCHOFF 1960), or alternatively, the

ability to be phase shifted by an environmental time-cue and yet not be synchronized by it. There is little experimental evidence to support this latter more complicated theory.

Rhythms of responsiveness of a biological clock to resetting by single exposures to light have been shown in a number of animals. A daily rhythm of responsiveness similar to that of *Glaucomys volans* has been found in *Peromyscus* (RAWSON 1956a, 1959), in *Mesocricetus* (DECOURSEY – unpublished experiments), and in 3 species of desert rodents (JUSTICE 1960). BÜNNING and JOERRENS (1959) using standard "light-breaks" to interrupt the dark period of diapausing *Pieris*, found that the effectiveness of such a light in breaking diapause was related to the time in the daily cycle at which it occurred. Similarly, with *Euglena* (BRUCE and PITTENDRIGH 1958), the mold *Philobolus* (BRUCE, WEIGHT, PITTENDRIGH 1960), *Paramecium* (EHRET 1959b), *Gonyaulax* (HASTINGS and SWEENEY 1958), *Mesocricetus* (BURCHARD 1958), and *Drosophila* (PITTENDRIGH et al. 1957, 1959), isolated light exposures for animals in otherwise constant conditions had different effects on the amount and direction of phase shifting related to the time in the daily cycle of activity at which light occurred.

The light response curves differ widely in shape and amplitude for different species. It is not unreasonable to expect differences between such remotely related organisms as *Drosophila* and *Glaucomys*, but some of the apparent differences may be related to differences in method. In assaying the light responsiveness of the flying squirrel, 10-minute light periods of a standard intensity were used since these produced a large phase shift but covered only a small percentage of the total activity cycle. This "pinpoint" method avoided some of the overlapping effects of 12-hour test periods spanning parts of the active and inactive phases (PITTENDRIGH and BRUCE 1959).

ASCHOFF (1960) has pointed out that a number of characteristics of activity rhythms such as the frequency, the intensity and total amount of activity, or the ratio of active time to rest time in each activity cycle may be influenced by light. He has further suggested that both the differential effect of a transition between different light intensities, and the proportional effect due to the duration of various intensities can affect the parameters of activity (ASCHOFF 1960, WEVER 1960). It is here proposed that the differential effect of light, as demonstrated by a light response curve, interacting with an endogenous regulator can explain several of the effects of light upon activity rhythm frequency in nocturnal rodents.

Continuous light has been shown to lengthen the daily activity cycle in white mice (ASCHOFF 1952, 1955), *Peromyscus* (RAWSON 1956a, JOHNSON 1939) and many others. The lengthening of the activity

rhythm in continuous light could be caused by a change in the rate of the timer per unit of time, or by a daily resetting phase shift. Experimental evidence for distinguishing between the two possible mechanisms is not available, but the data from *Glaucomys* are compatible with the resetting hypothesis. With a light response curve like that of *Glaucomys*, light will fall on the delaying part as well as the advancing part of the curve. Results with the flying squirrel suggested that the delay resetting signal was dominant to the advancing signal, and thus each day a delay in the onset of activity occurred, resulting in the lengthened cycle. With single light shocks of different intensity at a specific point in the response curve, it was found that the higher the intensity of light the greater was the delay (DECOURSEY 1959). It has been observed in mice (ASCHOFF 1952, JOHNSON 1939, RAWSON 1956a) and flying squirrels (Fig. 6) that as the light intensity in constant light was increased, the length of the daily activity cycle increased.

Shifts of the light-dark schedule have frequently been used in studying the effect of light on activity rhythms. Phase shifts of the activity rhythm have been caused by a delay or advance of an artificial light-dark schedule, by rapid transport of an animal across long distances, or in some cases by changing an animal from constant dark conditions to an artificial day out of phase with its internal rhythm. Numerous experiments have shown that nocturnal animals such as *Glaucomys* (Figs. 7—9), *Zapus* and *Mesocricetus* (DECOURSEY, unpublished experiments), and other species (BROWMAN 1937, HOLMGREN and SWENSSON 1953, JUSTICE 1960, RAWSON 1956a, 1959) will resynchronize gradually to the new schedule by a series of phase shifts whose pattern depends upon the relation of light to the activity rhythm of the animal. The concept of "time-givers" (ASCHOFF 1958) has suggested that regularly recurring environmental stimuli may synchronize the activity of an animal with a particular phase of an environmental cycle; it seems probable that the mechanism of action of light as a time-giver is the induction of phase shifts in an endogenous rhythm by a rhythm of responsiveness to light. If this hypothesis is valid it should be possible to synchronize an activity rhythm with a brief time-giver light shock each day. Such an experiment has not yet been carried out.

The effects of daily and seasonal changes in light upon the activity of night-active species have also been noted. Field studies of flying squirrels (DECOURSEY 1959), deer mice (FALLS 1953), kangaroo rats and the wood rat (JUSTICE 1960), and with many other species have shown the limitation of activity to the period of darkness, and a close relationship between the start of activity and the time of sunset. Similarly, with caged animals in natural daylight, the start of activity for *Glaucomys sabrinus* (RADVANYI 1959), deer mice (FALLS 1953, JOHNSON 1926),

white rats, hamsters and house mice (ASCHOFF and MEYER-LOHMANN 1954) was related to sunset time during the course of the year. Such seasonal adjustment appears to be an example of phase control as described above for artificial light schedules.

While there is no evidence that other rhythmic factors of the environment can act as time-givers for *Glaucomys*, there are suggestions that sound, temperature, and feeding cycles may be secondary time-givers in other species (ASCHOFF 1960). It will be important in the future to test these systematically, and to study their mode of action.

Zusammenfassung

1. Am nachtaktiven Flughörnchen, *Glaucomys volans*, wurden endogene und exogene Faktoren untersucht, die die tägliche Aktivität bestimmen. Der Beginn der Aktivität in Lauftrommeln an aufeinanderfolgenden Tagen lieferte das Kriterium, mit dessen Hilfe die Eigenschaften der endogenen Aktivitätsperiodik und quantitative Wirkungen des Lichtes auf die Periodik am besten erfaßt werden konnten.

2. In ununterbrochener Dunkelheit dauerte die Aktivitätsperiodik eines Flughörnchens über längere Zeitspannen mit gleichbleibender Frequenz an. Unterschiedliche Periodendauern gleichzeitig gemessener Flughörnchen und Phasenverschiebungen gegenüber der Ortszeit sprachen für die endogene Natur dieser Periodizitäten. Die Perioden hatten eine Dauer von 23—24$^1/_2$ Std; der kleinste mittlere Fehler des Einzelwertes betrug ± 2 min (gemessen über 15 Tage). Weder periodische noch aperiodische Geräusche beeinflußten die Aktivitätsperiodik der Hörnchen.

3. Dauernde Belichtung verlängerte die Periode.

4. Künstlicher oder natürlicher Licht-Dunkel-Wechsel synchronisierte die Flughörnchen derart, daß jeweils die Aktivitätszeit in die Dunkelzeit fiel. Offensichtlich waren hierfür Phasenverschiebungen verantwortlich, die auftraten, wenn Licht auf bestimmte Teile der Periode fiel.

5. Flughörnchen im Dauerdunkel wurden in Abständen von mehreren Tagen jeweils 10 min lang mit etwa 5 Lux belichtet. Derartige „Licht-Blitze" bewirkten Phasenverschiebungen, deren Größe sich nach der getroffenen Phase richtete. Es ergab sich eine periodisch wechselnde Licht-Reaktion: Maximal verzögernde Phasenverschiebungen bei Beginn der Aktivität; anschließend 6—7 Std geringer werdende Phasenverschiebungen und schließlich eine kurze Zeitspanne, in der Beschleunigungen auftraten. Während der restlichen Stunden einer Periode, bis etwa 1 Std vor Aktivitätsbeginn, blieb der Licht-Blitz wirkungslos.

6. Ein ähnlicher Mechanismus für die Steuerung der Aktivitätsperiodik mag bei dunkelaktiven Nagetieren weit verbreitet sein.

Literature

Aschoff, J.: Frequenzveränderung der Aktivitätsperiodik bei Mäusen im Dauerlicht und Dauerdunkel. Pflügers Arch. ges. Physiol. **255**, 197—203 (1952).

— Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik. Naturwissenschaften **41**, 49—56 (1954).

— Tagesperiodik bei Mäusestämmen unter konstanten Umgebungsbedingungen. Pflügers Arch. ges. Physiol. **262**, 51—59 (1955).

— Tierische Periodik unter dem Einfluß von Zeitgebern. Z. Tierpsychol. **15**, 1—28 (1958).

— Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **25**, 11—28 (1960).

—, and J. Meyer-Lohmann: Die 24-Stunden-Periodik von Nagern im natürlichen und künstlichen Belichtungswechsel. Z. Tierpsychol. **11**, 476—484 (1954).

Birukow, G., u. E. Busch: Lichtkompaßorientierung beim Wasserläufer *Velia currens* F. (Heteroptera) am Tage und zur Nachtzeit. II. Orientierungsrhythmik in verschiedenen Lichtbedingungen. Z. Tierpsychol. **14**, 184—203 (1957).

Browman, L. G.: Light in its relation to activity and estrous rhythms in the albino rat. J. exp. Zool. **75**, 375—388 (1937).

Brown jr., F. A.: Living clocks. Science **130**, 1535—1544 (1959a).

— The rhythmic nature of animals and plants. Amer. Sci. **47**, 147—168 (1959b).

Bruce, V. G., and C. S. Pittendrigh: Resetting the *Euglena* clock with a single light stimulus. Amer. Naturalist **92**, 295—306 (1958).

— F. Weight and C. S. Pittendrigh: Resetting the sporulation rhythm in *Philobolus* with short flashes of high intensity. Science **131**, 728—730 (1960).

Bünning, E.: Die physiologische Uhr. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

—, u. G. Joerrens: Versuche zur photoperiodischen Diapause-Induktion bei *Pieris brassicae* L. Naturwissenschaften **17**, 18—19 (1959).

Burchard, J. E.: Resetting a biological clock. Ph. D. Thesis, Princeton 1958.

DeCoursey, P. J.: Daily activity rhythms in the flying squirrel, *Glaucomys volans*. Ph. D. Thesis, University of Wisconsin 1959.

— Daily rhythm of light sensitivity in a rodent. Science **131**, 33—35 (1960a).

— Phase control of activity in a rodent. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **25**, 49—55 (1960b).

Ehret, C. F.: Photobiology and biochemistry of circadian rhythms in non-photosynthesizing cells. Fed. Proc. **18**, 1232—1240 (1959a).

— Induction of phase shift in cellular rhythmicity by far ultraviolet and its restoration by visible radiant energy. In Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. Washington, D. C.: AAAS 1959b.

Falls, J. B.: Activity and local distribution of deer-mice in relation to certain environmental factors. Ph. D. Thesis, University of Toronto 1953.

Frisch, K. v.: Die Richtungsorientierung der Bienen. Verh. dtsch. Zool. Ges. **17**, 58—72 (1953).

Harker, J. E.: Diurnal rhythms in the animal kingdom. Biol. Rev. **33**, 1—53 (1958).

Hasler, A. D., R. M. Horrall, W. J. Wisby and W. Braemer: Sun-orientation and homing in fishes. Lim. and Oceanog. **3**, 353—361 (1958).

Hastings, J. W., and B. M. Sweeney: A persistent diurnal rhythm of luminescence in *Gonyaulax polyhedra*. Biol. Bull. **115**, 440—458 (1958).

Hoffmann, K.: Versuche zur Analyse der Tagesperiodik. I. Der Einfluß der Lichtintensität. Z. vergl. Physiol. **43**, 544—566 (1960).

Holmgren, J. J., and A. Swensson: Der Einfluß des Lichtes auf den 24-Stunden-Rhythmus der Aktivität, des Leberglykogens und der Körpertemperatur. Acta med. scand. **278**, 285—298 (1953).

JOHNSON, M. S.: Activity and distribution of certain wild mice in relation to biotic communities. J. Mammal. **7**, 245—277 (1926).

— Effect of continuous light on periodic spontaneous activity of white-footed mice *(Peromyscus)*. J. exp. Zool. **82**, 315—328 (1939).

JUSTICE, K. E.: Nocturnalism in three species of desert rodents. Ph. D. Thesis, University of Arizona 1960.

KRAMER, G.: Experiments on bird orientation. Ibis **94**, 265—285 (1952).

PAPI, F.: Experiments on the sense of time in *Talitrus saltator* (Montagu) (Crustacea-Amphipoda). Experientia (Basel) **11**, 201—202 (1955).

PITTENDRIGH, C. S., and V. G. BRUCE: An oscillator model for biological clocks. In Rhythmic and synthetic processes in growth. Princeton: Princeton University Press 1957.

— — Daily rhythms as coupled oscillator systems and their relation to thermoperiodism and photoperiodism. In Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. Washington, D. C.: AAAS 1959.

— — and P. KAUSE: On the significance of transients in daily rhythms. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **44**, 965—973 (1959).

RADVANYI, A.: Inherent rhythms of activity of the northern flying squirrel in relation to illumination and to lunar and solar photoperiodism. Ph. D. Thesis, University of British Columbia 1959.

RAWSON, K. S.: Homing behavior and endogenous activity rhythms. Ph. D. Thesis, Harvard University 1956a.

— The accuracy of the endogenous activity rhythms of small mammals and their response to low body temperatures. J. cell. comp. Physiol. **48**, 343 (1956b).

— Experimental modification of mammalian endogenous activity rhythms. In Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. Washington, D. C.: AAAS 1959.

RENNER, M.: Über ein weiteres Versetzungsexperiment zur Analyse des Zeitsinnes und der Sonnenorientierung der Honigbiene. Z. vergl. Physiol. **42**, 449—483 (1959).

ROBERTS, S.: Circadian activity rhythms in cockroaches I. The free-running rhythm in steady-state. J. cell. comp. Physiol. **55**, 99—110 (1960).

SAUER, F.: Die Sternenorientierung nächtlich ziehender Grasmücken *(Sylvia atricapilla, borin,* and *cairruca)*. Z. Tierpsychol. **14**, 29—70 (1957).

SLOANAKER, J.: Analysis of daily activity of the albino rat. Amer. J. Physiol. **73**, 485—503 (1925).

WEBB, H. M., and F. A. BROWN jr.: Timing long-cycle physiological rhythms. Physiol. Rev. **39**, 127—161 (1959).

WEVER, R.: Possibilities of phase-control, demonstrated by an electronic model. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **25**, 197—206 (1960).

Dr. PATRICIA J. DECOURSEY, z. Zt. Zoophysiologisches Institut der Universität, Tübingen, Hölderlinstr. 12.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 355—362 (1961)

From the Departments of Zoology, Faculty of Science, University of Cairo, and University College for Girls, Ein-Shams University, Egypt

STUDIES ON CARBOHYDRATES IN REPTILES

III. SEASONAL CHANGES OF GLYCOGEN CONTENT OF TISSUES, AND OF RELATIVE WEIGHTS OF ORGANS OF UROMASTYX AEGYPTIA

By

FOUAD KHALIL and MOREAD YANNI

With 6 Figures in the Text

(Received December 10, 1960)

Introduction

Uromastyx, being a poikylothermic animal living in the desert is exposed to a great variation in temperature and food supply. Therefore the study of seasonal variations in carbohydrate content of different tissues of Uromastyx would be interesting.

The seasonal variations of blood glucose in Uromastyx have been discussed before (KHALIL and YANNI 1959).

As to the seasonal variations in glycogen content of the liver and skeletal muscles in different heterothermic animals, it was found that a decrease occurs in spring and summer to be followed by an increase in late autumn (MOSEIK 1888[1], GOLDFEDEROWA 1926, WATANABE 1940, SMITH 1950, and DESSAUER 1953), while the liver weight was found to increase in spring reaching its maximum in autum (GAULE 1901, SMITH 1950, and DESSAUER 1953).

WATANABE (1940) working on snakes found that in females the state of appearance of glycogen in the ovaries differs according to the growth period of the ovary cells, while in males a relation occurs between the amount of glycogen in testicle and the production of semen. SMITH (1950) found that in frogs the weights of the testes and ovaries reach their maxima in August and November respectively. The fat bodies attain their maximum development in October followed by a decrease through the winter, culminating in a rappid fall to a minimum at the spawning season (GAULE 1901, KENNEL[2] 1942, SMITH 1950, and DESSAUER 1953).

Material and Technique

The experimental animal used was again Uromastyx aegyptia, the lacertilian common in the Egyptian deserts. Animals used were as fresh as possible. No anaesthetic was applied, as it might possibly affect the carbohydrates in the different tissues studied. Animals were stupified by being left for half an hour in the refrigerator.

[1] Quoted by HOPPING (1923).

[2] Quotey by SMITH (1950).

Samples of liver, skeletal muscles (from thorax, hind limb and tail), muscular part of stomach (plain muscle), and mucosal part of stomach, gonads, peritoneal sacs (fatty tissue) and brain were rapidly removed from the animals and plunged into tared centrifuge tubes containing 1.5 cc of 30 percent potassium hydroxide, and analysed for glycogen by the usual method of PFLÜGER as improved by GOOD, KRAMER and SOMOGYI in 1933.

Finally the liver, gonads, peritoneal sacs and brain were weighed separately and the ratio of the weight of each to total body weight was calculated. The determination of glycogen and of the relative weight of the tissues were made during the course of the whole year, in order to ascertain whether seasonal variations occur or not. At least 5 animals were investigated every month. Data shown in curves are the average of the values obtained from these animals.

Results and Discussion

Data obtained on seasonal variations of total liver glycogen are shown in Fig. 1. As the relative weight of the liver was shown to fluctuate according to the season, therefore it was considered that a more accurate picture is obtained for the seasonal changes in glycogen storage in the liver, if they were expressed as total liver glycogen rather than as percentage glycogen of liver. It was also found that the average value of all the estimations of total liver glycogen extending the whole year round was 42.63 mg (for 63 animals). It ist interesting to note that this average was 40.98 mg in males (for 26 animals), while in females the average was slightly high being 43.55 mg (for 37 animals).

From the curve obtained (Fig. 1), it appears that the total glycogen of the liver decreases in the first months of the year reaching its minimum in February. This decrease may be due to diminished food intake, since animals pass these cold days hidden in their underground burrows.

A quantitative survey of the food intake at different times of the year showed that stomachs contained no food in late December and in January, and little food during February, after which bigger amounts were found in spring and summer.

As the animal regains its activity in March, a clear rise occurs, but was not continued in April as the sexual cycle begins leading to the consumption of large amounts of nutritive materials. A gradual increase in glycogen occurs in May and early June, followed by a sudden rise in glycogen to its maximum in July. This increase in glycogen coincides with the period of the year having the highest environmental temperature, during which the animal is more active. From this time onwards, as the environmental temperature subsides, the glycogen level decreases again till October, wheras in November and December another rise occured. This increase in November and December is possibly due the accumulation of nutritive material as a preparation for the winter time.

The data obtained on seasonal variations of liver ratio $\frac{\text{Liver weigth} \times 100}{\text{Animal weigth}}$ are shown in Fig. 2. It was found that the average liver ratio is 2.28

for the 125 examined animals. However this average was 2.16 in males (for 46 animals) and slightly higher in females 2.36 (for 79 animals). This result agrees with the work of MARCH (1937) on frogs.

The changes in liver ratio follows a similar course to that previously described for the total liver glycogen except in June and July. Moreover to ascertain whether the present data provide any evidence for variation in relation to sex, the monthly means of liver ratio for the 46 males have been computed separately from those of the 79 females examined. In females the liver ratio was low in winter reaching a comparatively low value in February. As soon as March approaches a sharp rise occurs till the end of May. From May a sharp decrease in liver ratio takes place reaching the minimum for the whole year in August. In September another rise in liver ratio was noticed as the sexual cycle ends completely in August. The rise in ratio was continued during October, November and reaches its maximum in December and January. In case of males, the liver ratio was generally low as compared to that of females except in July and August. Moreover in February, March and April the liver ratio in males was comparatively low. A sharp rise occurs in May, but soon a check takes place in June, to be followed by another rise in July. In August and September, regeneration begins and at the same time a gradual increase in ratio occurs, reaching its maximum in December.

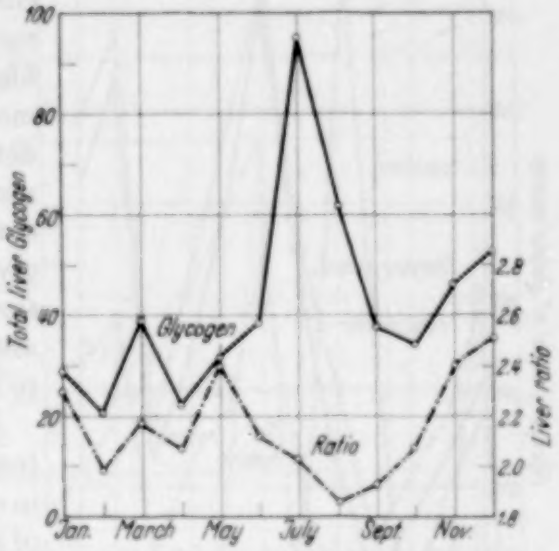


Fig. 1. Seasonal changes in total liver glycogen in mg. and liver ratio of Uromastyx aegyptia

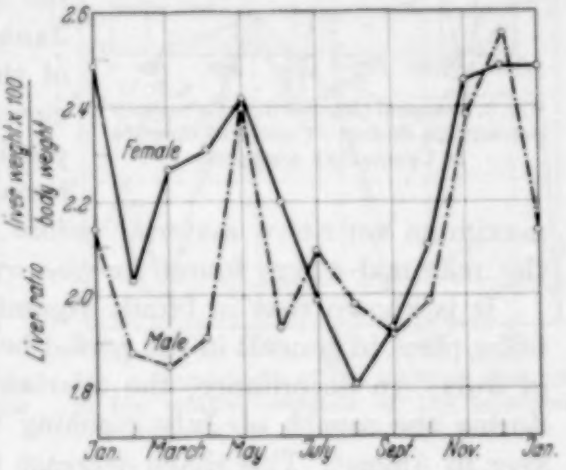


Fig. 2. Seasonal changes in the liver ratio of male and female Uromastyx aegyptia

The values found for the seasonal variations in glycogen in skeletal muscles of Uromastyx are shown in Fig. 3. The glycogen content was on the average 163.3 mg percent in thoracic muscles, 151.9 mg percent in hind limb muscles, and 124.1 mg percent in tail muscles. These

values seem to be low when compared to those recorded for turtles by NOBLE and PETERSON (1931). Also the data obtained showed that the amount of glycogen in different muscles varies greatly in different muscles, and shows a correlation with the activity of the muscles. Thus the thoracic muscles which are concerned with respiratory movements, were found to contain the highest value of glycogen, while the muscles of the tail being used only in defence contains the lowest value. Limb muscles are intermediate in their activity and consequently in their glycogen content. The seasonal variations in glycogen in skeletal muscles are pronounced and show a cycle similar to that of liver glycogen.

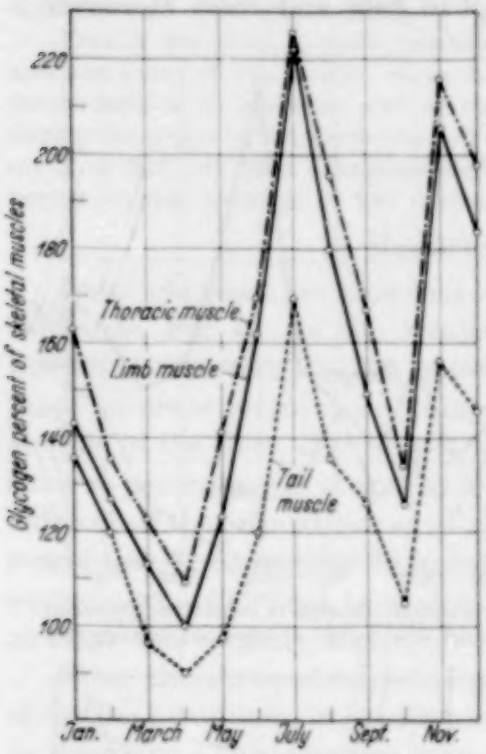


Fig. 3. Seasonal changes in the glycogen percentage in mg. of skeletal muscles of Uromastyx aegyptia

Results obtained for glycogen content of the remaining tissues are shown in Fig. 4, while the relative weights of these organs are shown in Fig. 5.

The glycogen content and ratio of the ovary showed a gradual rise during January and February for the beginning of the sexual cycle. The rise in both curves is continued till June, and is possibly related to the fact that the female provides the eggs with the maximum nutritive material before their deposition, as indicated by the maximal value found for the ovary ratio in June.

It is known that in family Agamidae, the process of laying of eggs takes place in general in the period between the end of May and the end of July. In accordance, the ovarian weight showed a sharp decrease during the month of July reaching its minimum value for the whole year in August. This sharp decrease in ovary weight during the month of July indicates that the process of egg shedding takes place mainly in this month. After the end of oviposition, a phase of regeneration of the ovarian tissue starts from August. This phase is characterised by a gradual increase in the relative weight of the ovaries which occurred during the period from August to December. It is rather striking that the beginning of regeneration of ovary tissue in August was found to coincide with its maximum content of glycogen. Then a gradual decrease in glycogen content was observed during the regeneration phenomenon.

The data obtained for glycogen of testis and its relative weight, seem in general to be in inverse relation to each others during most of the year. Thus in the time during which an intense increase in the relative weight of the testis occurs, a simultaneous sharp decrease in

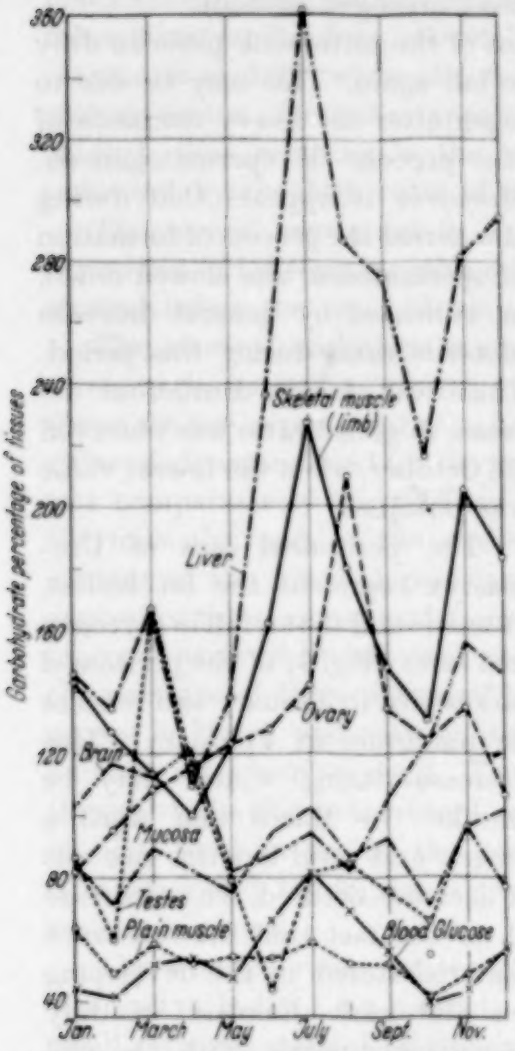


Fig. 4. Comparison of seasonal changes in the glycogen percentage in mg. of the different tissues of Uromastyx aegyptia

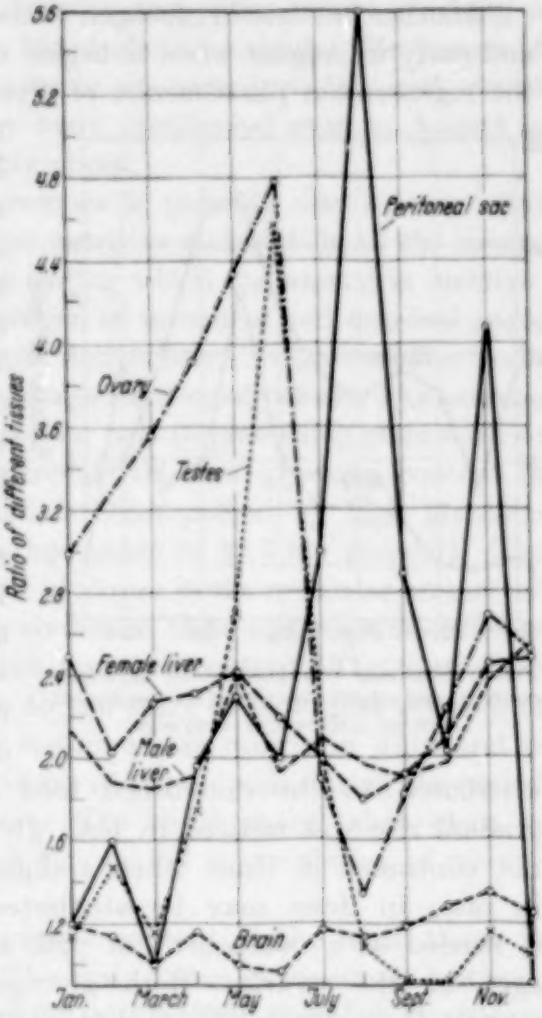


Fig. 5. Comparison of the seasonal changes in the relative weights of the principal organs studied in Uromastyx aegytia

the glycogen content of this organ was observed. During the winter period, the glycogen content showed a relatively low value. During March a sharp increase occurs, coinciding with the beginning of biological activity of the animal, followed by a sharp decrease in glacogen content till the end of June. Thus glycogen seems to be continually used in the active process of formation of spermatozoa.

The testis ratio was generally low in winter period. As soon as the animal becomes active in February, a slight increase in the weight of

the testis is observed followed by an unexpected slight decrease in March. From April onwards the testis ratio increases sharply till June, when the maximum value for the whole year was found. The interesting point is that the wave of spermatogenesis was at its peak in June, in which month the testes have the lowest glycogen content.

Another increase in glycogen content of the testis took place in July and early in August when it begins to fall again. This may be due to the regeneration phenomenon of glycogen after the heavy demands of the process of spermatogenesis. Moreover it appears that during this period the process of formation of spermatozoa was slowed down, as indicated by general decrease of testis ratio during this period. Thus from July a continuous decrease in gonad ratio was observed till October, when the lowest value was obtained.

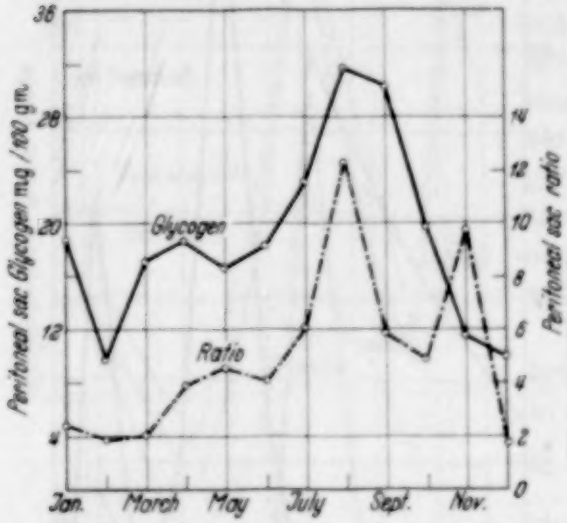


Fig. 6. Seasonal changes in the glycogen content, and relative weight of the peritoneal sacs of Uromastyx aegyptia

The peritoneal sacs of Uromastyx represent the fat bodies. It was found that a fall in glycogen and ratio (Fig. 6) of the peritoneal sacs begins in January and reaches its minimum in February. This decrease during winter may be attributed to the diminished food intake. In March and April a gradual rise was noticed in both glycogen and ratio but this rise was not continued in June when a slight decrease occured. This decrease in ratio in June may be attributed to the fact that fat substance is needed as a component of yolk material stored in the developing eggs in the ovaries. Both glycogen and ratio increase in July reacing their maxima in August. This coincides nearly with the end of sexual cycle. From September a gradual decrease was observed in glycogen till the end of the year. However, the ratio increases in November possibly for the accumulation of fat before the onset of winter. Moreover, if the increase in weight of the fatty peritoneal sacs is taken as an index of fat storage, it appears that two phases of high fat ratios are apparent. The first occurs in August and is accompanied by a high glycogen content of the fat tissue, while the second occurs in November, and is accompanied by a low glycogen content. Therefore if the theory of LONGENECKER (1941) and of TUERKISCHER and WERTHEIMER (1942) — that accumulation of glycogen in adipose tissue occurs during the synthesis of fat from carbohydrates — holds good for Uromastyx, it can be

concluded that the rise to maximum of the body fat ratio in August has a different origin from that in November. The first rise may be due to the conversion of carbohydrates to fat as indicated by high glycogen content of fatty tissue. This is supported by the finding that after the maturation of sex products in June, an enormous deposition of glycogen takes place in the liver, skeletal muscles and other tissues reaching a maximum in July, when also the blood glucose is high. The excess of carbohydrates afterwards appears to be changed into fats and stored as such thus resulting in the fat body (peritoneal sacs) in August as indicated by the high ratio of this organ.

The second maximum in November is possibly due to a general deposition of fat together with other nutritive materials in all the tissues studied before the onset of winter during which the animal is inactive.

The seasonal variations in glycogen of muscular and mucosal parts of stomach, as well as the glycogen and relative weights of the brain tissue are not as pronounced as in tissues mentioned before. The average value of glycogen found for the muscular part (representing plain muscle) was comparatively low 52.7 mg percent, this low glycogen content in the muscular part of the stomach is accompanied by high glycogen content of the mucosal part (average value of 87.3 mg percent). The curves for the seasonal variations of glycogen in the muscular and in the mucosal parts of the stomach are similar in their courses, and indicate the presence of three phases of high glycogen content. The first phase occurs in March and may be due to the start of biological activity of animals after winter sleep. The second phase occurs in July and is thought to be due to increased activity of the animals during the period of high temperature in the desert. The third phase takes place in November and December. During this period accumulation of reserve materials occurs.

The average value for the glycogen content of the brain tissue in Uromastyx is 108.1 mg percent. The brain tissue in mammals has very small glycogen content (KERR and GHANTUS 1936), therefore it appears that high glycogen content in brain tissue — as compared to other non glycogenetic tissue — may confirm the opinion that carbohydrates are the main substrate for respiration of grey matter (BEST and TAYLOR 1950). Also during winter both glycogen and ratio of the brain are high. Lower values are found in March but both curves retain their high levels in April. During the period of sexual activity, from May to August, the values for both are low, in the following months a rise takes place reaching a maximum in November. This rise in brain glycogen during winter was found by WATANABE (1940) working on snakes, as being due to a general decrease in both activity and basal metabolism of poikylothermic animals.

Summary

1. A general decrease in glycogen and ratios of all the tissues studied was found to occur in winter, minimum values being reached in February. This decrease was correlated with diminished food intake during the winter season.

2. In March a general increase occurs coinciding with the beginning of biological activity, but not continued further for increased sexual activity.

3. After the maturation of sex products in June, a general increase in glycogen content of most tissues occured reaching a maximum in July.

4. Late in August and in September and October, after the heavy demands of the breeding season have been met, tissue repair takes place accompanied by a general decrease in glycogen and ratios of most of the tissues.

5. In November and early December another increase in carbohydrates content and ratios of tissues was observed. This increase is possibly due to the accumulation of nutritive materials as a preparation for winter, which the animal spends in its underground burrow.

Bibliography

Best, C. H., and N. B. Taylor: Physiological basis of medical practice, 5th edit. London 1950.

Dessauer, H. C.: Hibernation of the lizard Anolis caroliniensis. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y) **82** (2), 351 (1953).

Evans, L. C.: Physiology of plain muscle. Physiol. Rev. **6**, 358 (1926).

Gaule, J.: Die Veränderungen des Froschorganismus während des Jahres. Pflügers Arch. Ges. Physiol. **87**, 473 (1901).

Goldfederowa, A.: Glycogen variation during the ontogenesis of frog and with the season. C. R. Soc. Biol. (Paris) **95** (25), 801 (1926).

Good, C. A., H. Kramer and M. Somogyi: Pflüger's method for glycogen determination. J. biol. Chem. **100**, 485 (1933).

Hopping, L.: Seasonal changes in the gases and nitrogen distribution in blood and urine of alligator. Amer. J. Physiol. **66**, 45 (1923).

Kerr, S. E., and M. Ghantus: The effect of varying the carbohydrate and insulin supply on the glycogen, free sugar and lactic acid in mammalian brain. J. biol. Chem. **116**, 9 (1936).

Khalil, F., and M. Yanni: Studies on carbohydrates in reptiles. I. Glucose in body fluids of Uromastyx aegyptia. Z. vergl. Physiol. **42**, 192 (1959).

Longenecker, M.: Metabolism of fat. Biol. Symposia **5**, 99 (1941).

March, F.: Relative growth in amphibia. Proc. zool. Soc. Lond. A **107**, 415 (1937).

Noble, R. L., and J. M. Peterson: Observations on the muscles and liver of Emy orbicularis. Quart. J. exp. Physiol. **21**, 193 (1931).

Saiki, T.: Chemical study of non striated muscle of mammals. J. biol. Chem. **4**, 483 (1908).

Smith, C. L.: Seasonal changes in blood sugar, fat body, liver glycogen and gonads in common frog. J. exp. Biol. **26** (4), 412 (1950).

Tuerkischer, E., and E. Wertheimer: Glycogen and adipose tissue. J. Physiol. (Lond.) **100**, 385 (1942).

Watanabe, Y.: Seasonal changes of the glycogen content in various organs of the snake. So. Path. Trans. **30**, 131 (1940).

Prof. Dr. Fouad Khalil,
Department of Zoology, Faculty of Science University of Cairo, Guiza (Egypt)

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 363—370 (1961)

From the Departments of Zoology, Faculty of Science, University of Cairo, and University College for Girls, Ein-Shams University, Egypt

STUDIES ON CARBOHYDRATES IN REPTILES

IV. EFFECT OF ADRENALINE ON BLOOD GLUCOSE AND TISSUE GLYCOGEN IN UROMASTYX AEGYPTIA

By

FOUAD KHALIL and MOREAD YANNI

With 3 Figures in the Text

(Received December 10, 1960)

Introduction

Little is known about the action of adrenaline on the blood glucose of poikylothermic vertebrates. KIERMER (1939) reported that hyperglycemia — produced by oxygen want which leads to secretion of adrenaline — in fishes persisted for some weeks depending on the activity of the fish. The persistant action of adrenaline was also found in frogs (HOUSSAY and BENEDETTO 1931), in snakes (PRADO 1947), and in alligators (COULSON and HERNANDEZ 1953). Moreover PRADO (1947) noted the presence of a relationship between the dose of adrenaline given and the intensity as well as the duration of hyperglycemia produced.

In mammals moderate doses of adrenaline cause a decrease and then an increase in liver glycogen (BEST and TAYLOR 1950). COULSON and HERNANDEZ (1953) found that in alligators, after intracardiac injections of 2 cc of 1/1000 adrenaline/kg body weight, over half the total body glycogen seemed to be lost from their stores.

Material and Technique

The experimental animal used was Uromastyx aegyptia, a common Egyptian desert lacertilian.

Adrenaline solution 1/1000 was used. After the initial collection of fasting blood samples, 0.50, 1.0 and 2.0 cc of adrenaline/kg body weight were injected into the coelomic cavity of the abdomenal region of experimental animals. Animals were kept at a constant temperature of 22° C.

In order to trace the way of action of adrenaline on glycogen content in different tissues of Uromastyx, three different types of experiments were undertaken as follows: 1. In the first experiment the animals received a moderate single dose of adrenaline 2.5 cc of 1/1000/kg body weight. 2. In the second experiment the animals received the same previous dose but on several days ($^1/_2$ cc of adrenaline daily). 3. In the third experiment the animals were injected daily with adrenaline ($^1/_2$ cc daily) until at the end received a total dose of 5 cc adrenaline 1/1000, i. e. double the previous dose.

Animals were killed when the blood glucose was judged to be maximal, and tissues were analysed for glycogen by the usual method of PFLÜGER as improved by GOOD, KRAMER and SOMOGYI (1933).

It seems, from reviewing the literature, that no earlier work was done on the effect of adrenaline in relation to body temperature of animals. Therefore the effect of adrenaline at different temperatures ranging from 15° C to 45° C was tested on Uromastyx. The standard dose used was $^1/_2$ cc of 1/1000 adrenaline/kg body weight, given intrathoracic. In this experiment intrathoracic and not intra-abdominal injections were used in order to find out the effect of introduction of the hormone at different parts of the body on the rate of action of adrenaline.

Results

After the injection of adrenaline, the colour of the skin gradually changes to pale yellow, probably due to the collection of the chromato-

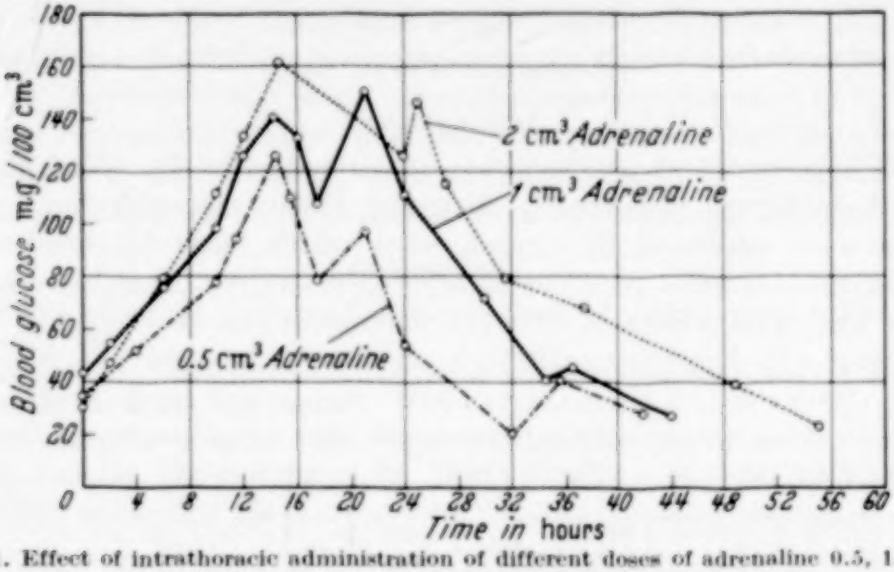


Fig. 1. Effect of intrathoracic administration of different doses of adrenaline 0.5, 1.0 and 2.0 cc/kg body weight on blood glucose of Uromastyx at 22° C

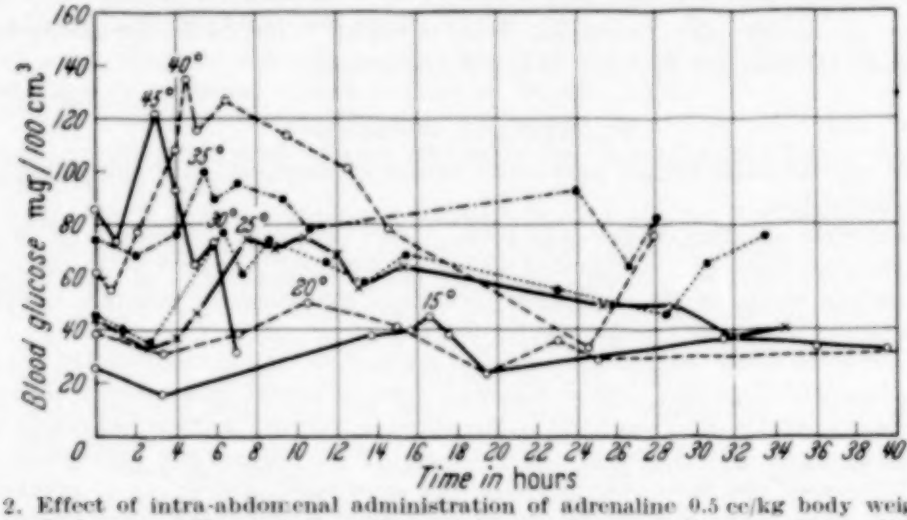


Fig. 2. Effect of intra-abdominal administration of adrenaline 0.5 cc/kg body weight on blood glucose of Uromastyx at different temperatures ranging from 15° to 45° C

phores of the skin. This paleness in colour was noticed in the average during the first 12 hours after administration of adrenaline. The ventral surfaces of the head and the neck were exceptional since the black

Table 1. *Effect of adrenaline on the distribution of glycogen in the different tissues of Uromastyx*
Experiments were undertaken in May

Dose of adrenaline given	Sex	Blood glucose mg/100 cc	mg · glycogen/100 g tissues in											
			Liver	Skeletal muscles			Lung	Heart	Gonad	Kidney	Plain muscle	Mucosa	Brain	Peritoneal sac
				Thoracic	Limb	Tail								
2.5 cm³ given as single injection	♂♀♀	72.0	215.2	130.3	120.2	95.7	45.9	37.7	72.3	57.0	67.7	56.3	122.0	10.0
	♀	70.0	195.5	91.4	84.0	79.5	41.3	81.5	133.2	61.2	56.5	79.1	143.0	24.0
	♀	77.8	219.7	105.9	77.3	59.7	42.7	90.1	139.8	54.0	54.2	85.6	152.4	20.0
Average		73.2	210.1	109.2	93.8	78.3	43.3	69.8	♂ 72.3 ♀ 136.5	57.4	59.5	73.7	139.1	18.0
2.5 cm³ given in 5 days	♀♀♀	71.7	128.2	56.0	44.0	33.6	44.6	70.0	78.0	70.3	57.5	70.7	116.0	8.0
	♀	76.0	160.1	66.1	55.0	44.6	79.0	98.7	61.8	64.9	66.7	71.3	119.5	24.8
	♀	80.4	171.7	97.0	70.0	55.6	58.3	65.3	79.1	65.0	66.0	60.4	125.0	14.2
Average		76.0	153.3	73.0	56.3	44.6	60.6	78.0	♀ 72.9	66.7	63.4	67.5	120.2	16.0
5 cm³ given in 10 days	♂♀	77.8	130.0	60.5	41.2	29.0	77.1	102.3	81.1	50.4	56.0	47.0	91.3	9.0
	♀	80.0	101.0	35.0	30.0	23.0	72.2	75.2	85.6	97.0	59.8	51.6	119.5	9.0
Average		78.9	115.5	47.5	35.6	26.0	74.6	88.7	♂ 81.1 ♀ 85.6	73.7	57.9	49.3	105.4	9.0
Average of 5 control animals		32.7	276.2	141.1	123.3	97.5	43.9	66.8	♂ 94.4 ♀ 122.4	64.9	54.2	75.6	81.8	20.6

Table 2. *Percentual variations of glycogen in different tissues of Uromastyx aegyptia after administration of adrenaline*

Type of experiments	Blood glucose mg/100 cc	Percentual variations of glycogen in tissues, in												
		Liver	Skeletal muscles			Lung	Heart	Gonads		Kidney	Plain muscle	Mucosa	Brain	Peritoneal sac
			Thoracic	Limb	Tail			Male	Female					
1. type	+129.0	−24.0	−22.6	−23.9	−20.0	± 0	+ 4.5	−23.3	+11.5	−11.5	+ 9.8	−22.5	+70.0	−12.6
2. type	+132.4	−44.5	−48.2	−54.3	−54.2	+38.0	+16.7	—	−40.4	+ 2.8	+17.0	−10.7	+46.8	−23.8
3. type	+141.3	−58.2	−66.3	−73.5	−63.5	+70.0	+32.8	−14.0	−30.0	+13.5	+55.0	−34.8	+28.8	−55.3

colour persisted. The colour of the skin of both areas did not respond to the action of either excessive heat or hormones.

The curves obtained for the effect of different doses of adrenaline (0,5, 1,0 and 2,0 cc/kg body weight) on blood glucose of Uromastyx are shown in Fig. 1, while data obtained for the effect of temperature on the action of adrenaline are shown in Fig. 2. Also the data obtained on Uromastyx for the effect of adrenaline on glycogen distribution in different tissues of the body are shown in Table 1. To obtain a more clear picture for the action of adrenaline on glycogen, the percentual variations were calculated and shown in Table 2.

Discussion

It is striking that in poikylothermic vertebrates a comparatively delayed action of adrenaline occurs. In Uromastyx, a delay of $^1/_2$—3 hours occurs (Fig. 2). In alligators, the delay is 2—3 hours (COULSON and HERNANDEZ 1953), while in rabbits the blood glucose reaches its maximum in 15 minutes (CORI, CORI and BUCKWALD 1930).

Moreover, poikylothermic animals are characterised by the long duration of hyperglycemia in blood with all doses of adrenaline given. In Uromastyx, the duration of hyperglycemia depends on the amount of dose given to the animal. Thus after the intracoelomic injections of 0.5, 1.0 and 2.0 cc of adrenaline/kg body weight the duration of hyperglycemia was 28,34, and 52 hours respectively Fig. 1. This value is somewhat similar to that reported by PRADO (1947) in snakes (40 and 50 hours) after using 0.25 to 2.0 mg adrenaline. Also PRADO (1947) claimed that this long duration of hyperglycemia is due to a general decrease in the rate of utilisation of sugar, in addition to the slow blood regulation by the liver in Ophidia. Such an explanation may apply as well to Uromastyx. Moreover it may be assumed that the hormone appears not to be rapidly destructed by the tissues. The persistance of the hyperglycemia state was observed also in fishes and frogs KIERMER (1939) and HOUSSAY and BENEDETTO (1932).

This long duration of hyperglycemia, stands in marked contrast, to that induced by adrenaline in homoiothermic animals, where it lasts only for one hour when the drug is injected intravenously (CORI, CORI and BUCHWALD 1930), or 5 hours when administered subcutaneously (CORI and CØRI 1929).

Also a relationship was found between the dose of adrenaline given and the intensity of hyperglycemia produced. Thus after the injection of 0.5, 1.0 and 2.0 cc of adrenaline, the hyperglycemia obtained was 125, 140, and 162 mg respectively. These results found in Uromastyx run partly in agreement with the previous data given by PRADO (1947) on snakes after low doses of adrenaline.

Moreover in Uromastyx (Fig. 1) it was found that the time taken for blood glucose to reach its maximum hyperglycemia, was the same (14 hours) in all the three conditions previously mentioned regardless the dosage used. A similar condition was found also in Uromastyx after the injections of different doses of glucose (KHALIL and YANNI 1959).

Further it should be mentioned that the thermal effect on the rate of action of adrenaline is of utmost importance in poikylothermic animals. Thus from the present study (Fig. 2) it was found that the time taken for the blood glucose to reach its maximum hyperglycemia depends on the experimental temperature on the one hand, as well as on the mode of introduction of the hormone on the other hand. Thus in Uromastyx, it was found that the higher the temperature of experimental animal, the more increased its metabolic rate, and consequently the less the time taken for blood glucose to reach its maximum hyperglycemia. A rise in temperature from 15° C to 45° C shortens the period taken for reaching maximum hyperglycemia from $16^1/_2$ to 3 hours only. Moreover when the time of occurrence of maximum hyperglycemia is plotted against the experimental temperature used, an interesting curve is obtained Fig. 3. From this curve it appears that the region of slow change lies between 15 and 25° C. At high temperatures, however, the change in time was faster till 40° C then becomes gradual again.

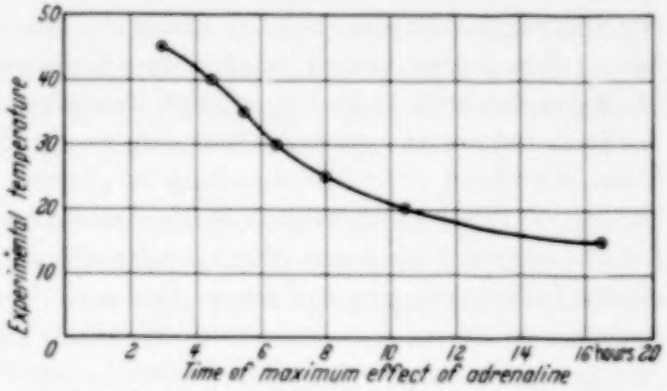


Fig. 3. The relation between the time of occurrence of maximum glucose in blood — after intra-abdomenal adrenaline injections — and body temperature in Uromastyx aegyptia

Moreover, during the experimental work on adrenaline, the mode and rate of introduction of the hormone in the body is of importance. Thus if the injections of adrenaline are given intrathoracic instead of intra-abdomenal, the time for occurrence of maximum hyperglycemia decreases from 14 to 9.5 hours (compare Fig. 1 and Fig. 3 at 22° C), as the hormone is quickly distributed in the body when introduced in the thoracic region.

Also an inverse relationship was found to exist between the duration of hyperglycemia after adrenaline administrations and the experimental temperature. Thus at high temperatures, the blood glucose returns to normal level in few hours (about 4.0 hours at 45° C), while at lower temperatures normal fasting values were obtained after comparatively long periods (about 19 hours at 15° C).

Further an increase in body temperature is always accompanied by a more pronounced rise in blood glucose indicating a direct relationship between the intensity of hyperglycemia obtained an temperature of experimental animal.

If we compare the time required to reach maximum hyperglycemia as a result of adding glucose or injecting adrenaline, we find that at lower temperatures from 15° to 30° C, the maximum glucose in blood after adrenaline injections is reached after comparatively long periods as compared to glucose injections (KHALIL and YANNI 1959). This delay however, may be due to latent period taken by the hormone to stimulate the enzymes which catalyse the hydrolysis of glycogen to glucose, and consequently its appearance in blood stream. However at high temperatures, this latent period is very much shortened, because the process of glycogenolysis is faster at high temperatures.

It is interesting to note that the rate of disposal of excess glucose from the blood after the injection of glucose or of adrenaline is nearly the same. This phenomenon indicates that the mechanism responsible for the removal of excess glucose from the blood is the same irrespective of the factors causing the hyperglycemia. This result runs in harmony with those given by COULSON and HERNANDEZ (1953) on alligators.

Table 3. *The time of changes in blood glucose and colour of experimental animal after adrenaline injections*

Experimental temperature °C	Time of occurrence of maximum blood glucose hours	Time for reaching maximum paleness in skin hours	Time for blood glucose to return normal hours	Time for development of normal black colour hours
20	10.5	18.5	16.5	96
25	8	12	30.5	72
30	6.5	10	28.5	48
35	5.5	8.5	26.0	36

Paleness of the skin should not be taken as an exact indication of presence of adrenaline in blood, because it was found that there is no relation between the rate of action of adrenaline, time of maximum blood glucose, and the change of colour of the skin of experimental animal. Thus in general the blood glucose after reaching its maximum begins to fall to normal level at a time when paleness in colour of skin was still increasing in intensity. Moreover at the end of experiment, the blood glucose reaches the normal fasting value before the complete development of the normal black colour of animal's skin, as shown in Table 3.

This applies only to experiments done at low temperatures, because normal animals kept at high temperature become pale in colour without the action of adrenaline.

Results obtained on the effect of adrenaline on blood glucose and on glycogen content of different tissues (Table 1 and 2) show that the rise in blood glucose reaches 2 to 2.5 times the normal control value. This increased percentage of glucose in blood seems to be due to the mobilisation of large amount of glycogen stored in the liver and skeletal muscles, as indicated by the great depletion of glycogen from both tissues. Moreover a slight decrease in glycogen percentage was also oberved in other tissues as mucosal part of the stomach, gonads and peritoneal sacs, while in the remaining tissues as lung, heart, kidney, plain muscle and brain an increase in glycogen percentage occurs. Further, it should be mentioned that in all cases studied, the higher the dose of adrenaline given to the experimental animal, the more marked is this decrease or increase in glycogen content. A similar decrease in liver and skeletal muscle glycogen after administration of adrenaline occured in alligators (COULSEN and HERNANDEZ 1953).

Also a significant relation between the glycogen content and the mode of application of the dose given to the animal was found out. In Uromastyx, it was noticed that the longer the period during which adrenaline is introduced into the body, the more pronounced is its effect on the glycogen content of the different tissues. Moreover, small doses which have no effect when introduced singly, showed a pronounced effect on some tissues when divided and given over several days. Thus after an intraperitoneal injection of 2.5 cc of adrenaline, the amount of glycogen in lung tissue remains more or less constant. When the same dose of adrenaline (2.5 cc) was given over 5 days, the glycogen content showed more pronounced percentual variations +38. Moreover, doubling the previous dose (using 5 cc adrenaline) produced a double increase in percentual variations (+70). That similar doses when divided and given over several days have more pronounced effect on tissue glycogen than single injections, may be due to the fact that in the first case, small doses are given extra time to reach their maximum effects. Also it appears that the amount of the hormone destructed in the body in the first case is much less than in the second case, where the whole dose is given as one injection.

Further the present data indicate clearly the great change of glycogen from one organ to the other after adrenaline administrations. Since glycosuria was always absent, therefore it appears that glucose is transferred from one tissue to the other, leading to an obvious decrease in the glycogen content of donors (liver, skeletal, muscles, gonads and mucosal part of the stomach), and an obvious increase in the glycogen content of receptors (lung, heart, plain muscle, kidney, brain tissue) and in blood glucose.

Summary

1. The effect of excess adrenaline in the body on blood glucose was worked out at different temperature ranging from 15° to 45° C. A comparatively delayed action of adrenaline preparations was observed in Uromastyx reaching for example 3 hours at 20° C. This delay is shortened to half an hour at 45° C.

2. A relation occurs between the dose of adrenaline administered in the body and the magnitude and duration of hyperglycemia produced.

3. The rate of disposal of glucose from the blood stream after the injection of either glucose or adrenaline is very comparable. This indicates that the mechanism responsible for removal of excess glucose from the blood is the same irrespective of the factors causing the hyperglycemia.

4. After adrenaline administrations, a decrease in glycogen content was observed in liver, skeletal muscles, mucosal part of the stomach, gonads and peritoneal sacs. A comparable increase in glycogen content of the tissues of lung, heart, kidney, plain muscle, brain and in glucose content of blood occurs.

5. The time of action of adrenaline varies according to the mode and site of introduction of the hormone into the body. Thus intrathoracic injections have comparatively faster action than intra-abdomenal ones. It was also found that, the longer the period during which adrenaline is introduced into the body, the more effective it is on the glycogen content of the different tissues.

Bibliography

Best, C. L., and N. S. Taylor: Physiological basis of medical practice, 5th edit. London 1950.

Cori, C. F., and G. T. Cori: The mechanism of epinephrine action. The influence of epinephrine on lactic acid production and blood sugar utilisation. J. biol. Chem. **84**, 683 (1929).

— — and K. W. Buchwald: The mechanism of epinephrine action. Changes in blood sugar, lactic acid, and blood pressure during continuous intravenous injection of epinephrine. Amer. J. Physiol. **93**, 273 (1930).

Coulson, R. A., and T. Hernandez: Glucose studies in crocodilia. Endocrinology **53**, 311 (1953).

Good, C. A., H. Kramer and M. Somogyi: Pflüger's method for glycogen determination. J. biol. Chem. **100**, 485 (1933).

Hroussay, B. A., and E. Bendetto: Rôle de l'hypophyse dans les hyperglycémies adrenalique et morphinique du crapauds. C. R. Soc. Biol. (Paris) **91**, 472 (1932).

Khalil, F., and M. Yanni: Studies on carbohydrates in reptiles. I. Glucose in body fluids of Uromastyx aegyptia. Z. vergl. Physiol. **42**, 192 (1959).

Kiermer, A.: Über den Blutzucker der Süßwasserfische. Z. vergl. Physiol. **27**, 460 (1959).

Prado, J. L.: Effect of adrenaline and insulin on the blood sugar of Ophidia. Rev. canad. Biol. **6**, 2 (1947).

Prof. Dr. Fouad Khalil, Department of Zoology, Faculty of Sience
University of Cairo, Guiza (Egypt)

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 371—413 (1961)

Aus der Forschungsgruppe Kybernetik des Max-Planck-Institutes für Biologie, Tübingen

QUANTITATIVE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN LICHTREIZ UND MONOPHASISCHEM ELEKTRORETINOGRAMM BEI RÜSSELKÄFERN

Von

KUNO KIRSCHFELD

Mit 38 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. Januar 1961)

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung und Fragestellung 371
A. Methoden 372
B. Reaktionen auf rechteckförmige Lichtreize 376
1. Reaktionen auf Hellimpulse 376
2. Reaktionen auf Dunkelimpulse 371
3. Gemeinsame Darstellung der Reaktionen auf Hell- und Dunkelimpulse 383
C. Die Helligkeitsadaptation 386
1. Sprungweise Helligkeitsabnahme auf völlige Dunkelheit; Variation der Helladaptationszeit 387
2. Sprungweise Helligkeitsabnahme auf völlige Dunkelheit; Variation der Helladaptations-Intensität 389
3. Sprungweise Helligkeitsabnahme auf eine geringere Helligkeit 390
4. Die Helladaptation 391
D. Reaktionen auf sinusförmige Lichtreize 393
1. Form der Elektroretinogramme 393
2. Amplituden-Frequenzgänge 395
3. Phasenfrequenzgänge 398
E. Abhängigkeit der Reaktion vom Verhältnis ΔI zu I 400
F. Zusammenhänge zwischen den Reaktionen auf stufen- und sinusförmige Helligkeitsänderungen 404
G. Vergleich mit Ergebnissen verhaltensphysiologischer Experimente 406
1. Zur Frage der linearen und nichtlinearen Helligkeitsübersetzung . . . 406
2. Das ERG als Maß für die physiologische Reizwirksamkeit 407
3. Beziehungen zur „Funktionsstruktur" 408
Zusammenfassung 411
Literatur 412

Einleitung und Fragestellung

Treffen Lichtänderungen die Sinneszellen der Komplexaugen von Arthropoden, so treten am Auge elektrische Potentialschwankungen, die „Belichtungspotentiale" oder „Elektroretinogramme" (ERGs) auf, die seit HARTLINE (1928) vielfach unter verschiedenen Fragestellungen untersucht wurden.

Nachdem die optomorotischen Reaktionen eines Insekts, des Rüsselkäfers *Chlorophanus viridis*, auf bewegte Muster analysiert und quantitativ bekannt waren (HASSENSTEIN 1957, 1959; REICHARDT 1957, REICHARDT und VARJÚ 1959, VARJÚ 1959), trat die Frage auf, ob sich quantitative Beziehungen zwischen elektrophysiologischen und verhaltensphysiologischen Meßdaten finden lassen.

Die optomotorischen Versuche erlaubten Schlüsse nicht nur über die Wechselwirkungen zwischen benachbarten Ommatidien, sondern auch über die Transformation der Reize *vor Beginn* der Wechselwirkung: Es war die Frage, ob sich diese Transformation auch im ERG ausdrückt. Dies schien zunächst nicht zuzutreffen, denn die Analyse der optomotorischen Experimente forderte einen linearen Zusammenhang zwischen Reiz und physiologischer Reaktion vor der Wechselwirkung, während elektrophysiologische Untersuchungen einen logarithmischen Zusammenhang zwischen Reizlicht-Intensität und Höhe des auftretenden Potentials ergeben hatten. — Die Aufgabe der folgenden Arbeit bestand daher darin, möglichst den vollständigen Formalismus zu ermitteln, nach dem Lichtänderungsreize beliebiger Form im ERG von Chlorophanus in Potentialschwankungen übersetzt werden. Hierbei kam es besonders darauf an, bei der Reizung auch solche Helligkeitswechsel zu bieten, wie sie in der natürlichen Umwelt vorkommen, und solche, die die Ommatidien bei optomotorischen Versuchen erhalten: Nur so sind quantitative Vergleiche zu den Ergebnissen der Verhaltensversuche möglich.

A. Methoden

Versuchstiere und Präparation. Versuchstiere waren die Rüsselkäfer Chlorophanus viridis und Hylobius abietis. Sie wurden im Freien gefangen und bis zum Versuch im Käfig gehalten. Zwischen den Belichtungspotentialen beider Arten fanden sich so gut wie keine Unterschiede (einzige fragliche Ausnahme: s. Abb. 33). Chlorophanus stand aber nur 2 Monate zur Verfügung, weshalb die meisten Versuche an Hylobius durchgeführt wurden.

Die Komplexaugen von Hylobius erscheinen von außen dunkelbraun. Sie sind oval geformt und umgreifen zum Teil den Rüsselansatz. Die etwa 400 Ommatidien sind regelmäßig angeordnet (Abb. 1). Ganz ähnlich sind die Augen von Chlorophanus in Farbe, Größe und Ommatidienzahl. Sie reichen auf Grund des breiteren Rüsselansatzes nur nicht so weit auf die Ventralseite.

Vor dem Versuch wurden die Tiere in Kohlendioxyd narkotisiert, anschließend mit „Palavit" (Firma Kulzer, Bad Homburg v.d.H.) auf einem Präparatehalter festgelegt. Um Muskelpotentiale möglichst zu vermeiden, wurde ihr Bauchmark durchtrennt. Der Vergleich mit nicht narkotisierten, intakten Tieren ergab keine Unterschiede in den Reaktionen.

Während des Experiments befand sich das Präparat in einer feuchten Kammer aus planparallel geschliffenem Glas. Die differente Elektrode konnte mit Hilfe eines Mikromanipulators unter Kontrolle durch ein Binokularmikroskop auf den gewünschten Augenteil aufgelegt werden. Um Übergangsimpedanzen zwischen Auge und Elektrode möglichst klein zu halten, wurde die Cornea an der Ableit-

stelle mit einer spitzen Stahlnadel vorsichtig durchbohrt. Änderte man die Elektrodenlage, so änderten sich unter Umständen die Amplituden der Reaktionen, nicht aber ihre Form. Ebenso hatte der Schatten, den die Elektrode auf das Auge wirft, keinen Einfluß auf die Form des ERGs: Bei Vergrößerung des Schattens änderte sich nur die Amplitude. Die Präparate blieben fast immer einige Stunden, zweimal länger als 3 Tage intakt. Die Messungen wurden zwischen 13 und 18 Uhr bei 20—25° C durchgeführt. Innerhalb dieses Zeitraumes und bei Kontrollversuchen um 9 und um 24 Uhr wurde keine von der Tageszeit abhängige Formänderung des ERGs beobachtet.

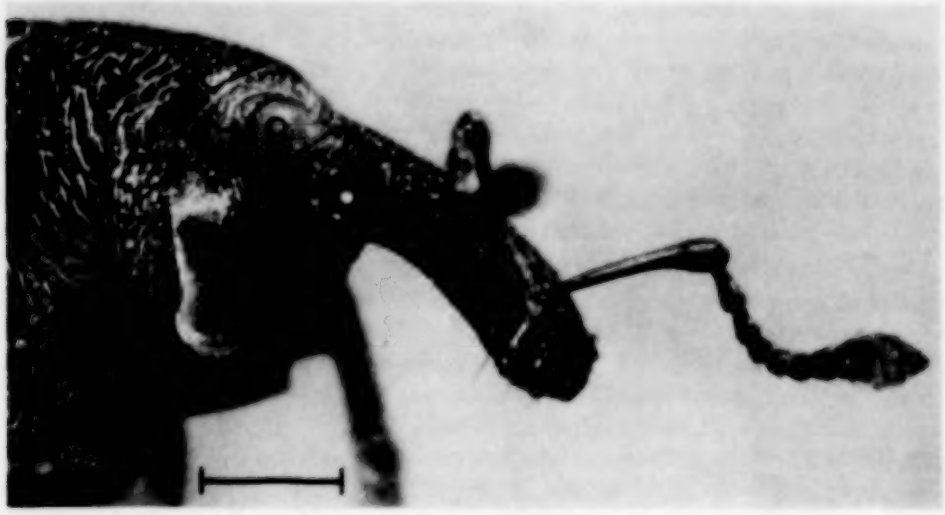


Abb. 1. Kopf des Fichtenrüsslers Hylobius abietis. Der schwarze Kreis auf dem Komplexauge markiert den Bereich, auf den die Elektrode aufgelegt wurde. Größe der Eichmarke 1 mm

Elektroden und Elektronik. Als Elektroden bewährten sich aus 2 Gründen die von WALTHER (1958) angegebenen Flüssigkeitselektroden am besten: 1. Diese Elektroden übertragen auch längere Gleichpotentiale bzw. niedere Frequenzen unverfälscht im Gegensatz zu eingestochenen Stahlelektroden, die teilweise „differenzierend" wirken. 2. Wegen der elastischen Verbindung zwischen Elektrode und Cornea ist diese Elektrodenanordnung gegen Erschütterung unempfindlicher als oberflächlich in das Auge eingestochene Metallelektroden. Die Prüfung der Elektroden-Anordnung am Präparat mit einem Potentiostaten nach WENKING ergab, daß Anstiegsflanken von ≈ 1 msec noch unverzerrt übertragen werden. Diese Anstiegszeit ist kurz genug, um alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Elektroretinogramme unverzerrt zu übertragen.

Die Flüssigkeitselektroden nach WALTHER sind folgendermaßen aufgebaut: Ein dünnes, auf einer Seite mit einem Wattebausch verschlossenes Glasröhrchen (Außendurchmesser 1—1,3 mm) ist mit Insekten-Ringer (für „roach, nerve and muscle" nach ROEDER, 1948) gefüllt. Von der anderen Seite taucht in die Ringer-Lösung ein elektrolytisch chlorierter Silberdraht (Durchmesser unchloriert 0,2 mm), der leitend mit dem Verstärkereingang verbunden wird. Die pinselförmig aus dem Glasröhrchen ragende Spitze des Wattebausches wurde auf die in Abb. 1 markierte Stelle des Auges aufgelegt. Die indifferente Silber-Silberchlorid-Elektrode (Durchmesser 0,3 mm) tauchte in die Körperflüssigkeit von Thorax oder Abdomen.

Die mit den Elektroden abgeleiteten Potentiale wurden mit einem von WENKING entwickelten Gleichspannungs-Verstärker verstärkt. Dieser hatte bei symmetrischem Eingang Eingangswiderstände von 2mal 1 MΩ und stufenförmig regelbare Verstärkung bis 3mal 10^4fach. Seine Grenzfrequenzen lagen bei 0 Hz und 50 kHz. Es konnte eine Rückführung mit Zeitkonstanten von 0,1—10 sec eingeschaltet werden.

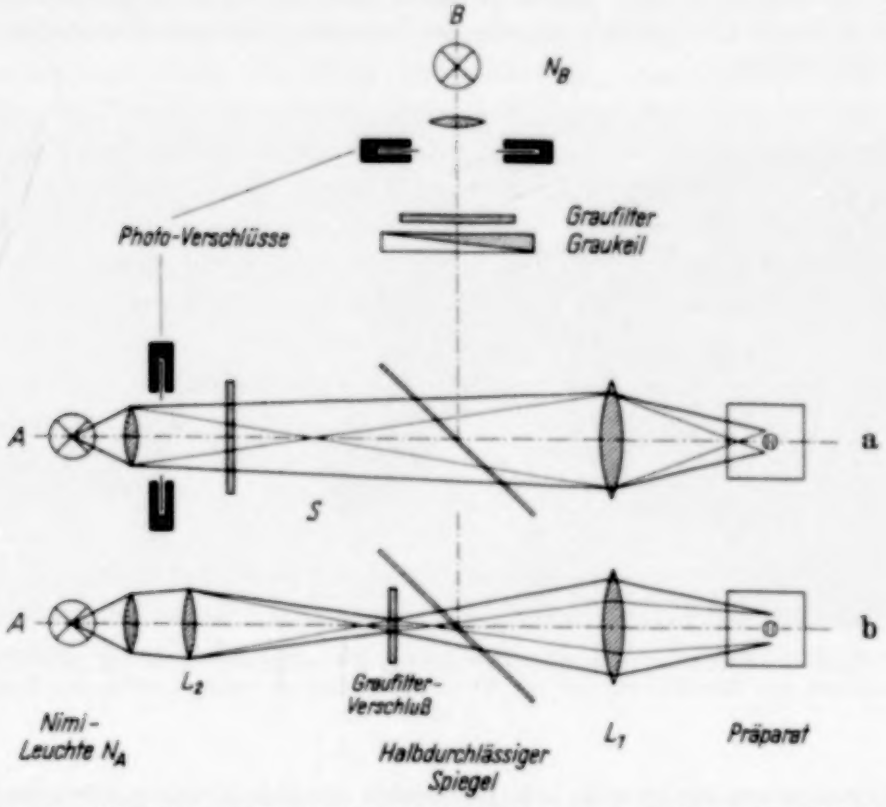


Abb. 2a u. b. Strahlengang der Reizlicht-Apparatur. a Anordnung für Hellreize und „Sinuslicht". b Anordnung zur Erzeugung von Dunkelreizen. Die Randstrahlen begrenzen die Durchmesser der Lichtbündel

Die ERGs wurden auf einem Oszillographen (Tektronix-Type 541 mit Plug-In Unit 53/54D) aufgezeichnet, auf 35 mm Film (Zeiss-Kamera P/1011) registriert und mit einer Meßlupe (Firma Kilfitt) ausgewertet.

Reizgebung. Zwei getrennte, rechtwinklig zueinander verlaufende symmetrische Strahlengänge wurden vor ihrem Auftreffen auf das Präparat von einem halbdurchlässigen Spiegel vereinigt (Abb. 2a). Jeder Strahlengang nahm seinen Ausgang von einer Nimi-Leuchte N (Firma Zeiss), deren als Blende wirkende Kondensorfassung von der Linse L_1 verkleinert auf dem Präparat abgebildet wurde. Das Lichtbündel konvergierte gegen das Präparat so, daß seine Randstrahlen einen Winkel von 20^0 einschlossen. Der Durchmesser des in der Präparate-Ebene erzeugten Leuchtflecks betrug 6 mm. In jedem der Strahlengänge befanden sich außerdem ein Wärmeschutzfilter (Firma Schott und Gen. KG 1), ein Photozentralverschluß (Firma Deckel oder Gauthier), ein Filterhalter für Neutral-Graufilter (Firma Schott und Gen. Serie NG) und — für eventuell notwendige Symmetrierung — ein Graukeil. — Mit dieser Anordnung ließ sich einem Adaptationslicht ein Helligkeitsimpuls überlagern (Abb. 3a).

Die Vereinigung durch den halbdurchlässigen Spiegel brachte es mit sich, daß das auf das Präparat treffende Licht zu 30% linear polarisiert war. Ob diese Polarisation für die Reaktion eine Rolle spielte, wurde an 4 Tieren geprüft: Das Auge wurde mit horizontal polarisiertem Licht beleuchtet, dann wurden 2 Lichtreize gegeben: der eine mit horizontal polarisiertem Licht, der andere mit vertikal polarisiertem. Die ERGs unterschieden sich gesichert um maximal 4% in der Amplitude, die Form änderte sich nicht. Ob die gemessenen Unterschiede auf der Polarisation des Lichtes beruhten oder auf einer leichten Asymmetrie des Strahlenganges, konnte nicht entschieden werden. Die Polarisation des Lichtes hatte demnach keinen oder nur einen geringen Einfluß auf die Reaktionen.

An der Stelle *S* konnte in den Strahlengang ein *Sinuslicht-Generator* eingebaut werden. Dieser besteht nach einer Idee von Stegemann (1956) aus 2 Polarisationsfiltern, von denen das dem Präparat zugewandte starr montiert, das andere drehbar in einem Kugellager vor dem ersten gehaltert wurde. Der Sinuslicht-Generator wurde mit Treibriemen von einem (auf getrennt stehendem Stativ befestigten) Elektromotor mit Vorgelege angetrieben. Es konnten mit ihm sinusförmige Lichtänderungen von 0—200 Hz erzeugt werden. Mit dieser Anordnung konnte Adaptationslichtern Sinuslicht (Abb. 25a) überlagert werden.

Wurde durch einen der Strahlengänge ein Graufilter gezogen, so wurde die Lichtintensität am Präparat um einen bestimmten Prozentsatz geschwächt; das Auge empfing einen *Dunkelreiz* (Abb. 9a). Um die Abstiegsflanken solcher Dunkelreize möglichst kurz zu halten und um Bewegungen auf dem gereizten Auge möglichst zu vermeiden, wurde beim Darbieten von Dunkelreizen der Strahlengang etwas abgeändert (Abb. 2b): Durch eine zusätzliche Linse L_2 wurde der Strahlengang konvergent gemacht; das als Verschluß dienende Graufilter wurde durch die schmalste Stelle des Lichtbündels geführt. Beim abgeänderten Strahlengang gingen 70% der Lichtintensität verloren. Die Flanken der Hellreize waren 1 bis 3 msec lang (bedingt durch die Photoverschlüsse), die der Dunkelreize 20 msec für Reize von 200 msec und länger. Verkürzte man die Reizzeiten schrittweise von 200 auf 20 msec, so wurden die Abstiegsflanken proportional kürzer. Um zu prüfen, ob 20 msec Abstiegsflanke für das Auge als „stufenförmig" angesehen werden konnte, d.h. ob eine weitere Verkürzung der Flanke keine Änderung der Reaktion bewirkte, wurden die Abstiegsflanken von 20 msec auf 6 msec verkürzt: Dabei trat keine Änderung der Reaktion auf.

Bei allen vorkommenden Reizarten wurde dafür gesorgt, daß sämtliche Ommatidien gleichzeitig gereizt wurden, d.h. daß während der Reizung keine Bewegung von Konturen oder dunklen bzw. hellen Flecken auf dem Auge stattfand.

Die Intensität der Strahlengänge wurde mit Photoelement, Photozelle oder Photomultiplier gemessen. Sämtliche Intensitäten werden in relativen Einheiten angegeben. Der größtmöglichen Intensität eines Strahlenganges wurden 100 relative Einheiten gleichgesetzt. Mit einem Luxmeter gemessen entsprechen 100 relative Einheiten etwa einer Beleuchtungsstärke, wie sie durch direkte Sonnenbestrahlung hervorgerufen wird. Auf Grund der verschiedenen Farbtemperaturen von Sonne und Nimi-Leuchte kann keine genauere Angabe über Absolutintensitäten gemacht werden. Um gleiche Reizwirksamkeit der beiden Strahlengänge einzustellen, wurde mit Hilfe des biologischen Präparates geeicht, d.h. die Intensitäten beider Strahlengänge wurden als gleich angesehen, wenn Testreize der beiden Lichtquellen gleiche Reaktionen hervorriefen.

Auswertung der Meßergebnisse. Wurde das Auge des Versuchstieres im Verlauf von *Minuten* mehrmals von gleichen Lichtreizen getroffen, so schwankten die gemessenen bioelektrischen Spannungen um bis zu 5%. In den Kapiteln B und D wurden bei jeder Messung die Reaktionen über 2—5 gleiche Reize gemittelt.

Zum Messen von Kurvenscharen waren *Stunden* erforderlich. Im Verlauf so langer Zeiten wurde das Präparat oft unempfindlicher. Gleiche Reize riefen am Ende einer Meß-Serie kleinere Reaktionen hervor als am Anfang. Diese Empfindlichkeitsabnahme hatte auf Grund der folgenden Auswertungsweise keinen Einfluß auf die Form der Einzelkurven: Die Meßpunkte für eine Kurve wurden nicht in einer Reihenfolge von kleinen zu großen Abszissenwerten fortschreitend gemessen oder umgekehrt, sondern in unregelmäßiger Folge. Eine auftretende Empfindlichkeitsabnahme als Funktion der Zeit äußert sich dann als Vergrößerung der Streuung, nicht als Verfälschung der Kurvenform.

Die Einzelkurven einer Schar wurden nacheinander gemessen. Wurde das Präparat inzwischen unempfindlicher, so hatte dies zur Folge, daß die Meßpunkte der zuletzt gemessenen Kurve insgesamt tiefer lagen, als sie gelegen hätten, wenn sie gleichzeitig mit der ersten Kurve gemessen worden wären; die Lage der Kurven zueinander war also verfälscht. Deshalb wurde, wenn die Empfindlichkeit des Präparats im Verlauf der Messung einer Kurvenschar um mehr als 20% gesunken war, die Lage der einzelnen Kurven zueinander gesondert bestimmt: Zu *einem* Abszissenwert wurde der Ordinatenwert jeder Kurve mehrmals gemessen, gemittelt, und die Kurven dann auf die so bestimmten Ordinatenwerte, die das Lageverhältnis der einzelnen Kurven zutreffend angaben, normiert. Diese Korrektur wurde bei zwei der in Abb. 14 enthaltenen und bei einer der in Abb. 29 enthaltenen Kurvenscharen angewendet. Die Faktoren, mit denen die Punkte der einzelnen Kurven multipliziert werden mußten, lagen zwischen 0,8 und 1,5.

Die meisten Kurven wurden an 3—5 Tieren aufgenommen. In den Abbildungen wurden Mittelwerte aufgetragen. Die sich entsprechenden Kurven von verschiedenen Versuchstieren sind, was die Absolutgröße der Reaktionen betrifft, nicht direkt miteinander vergleichbar, gehen doch in die Absolutgröße Faktoren wie die Elektrodenlage oder kleine Unterschiede in der Orientierung des Präparates zum Reizlicht ein. Meßkurven von verschiedenen Präparaten können demnach nur in ihrem *Verlauf* miteinander verglichen werden. Um die Streuung der Einzelpunkte unabhängig von den systematischen Fehlern, durch die die Kurvenlage bedingt ist, beurteilen zu können, wurden die Einzelkurven mit einem so großen Faktor multipliziert, daß die Fläche unter der normierten Kurve, bezogen auf gleiche Basis, gleich der Fläche unter der Mittelwertskurve wurde. In die Mittelwertskurven wurden für jeden Meßpunkt durch horizontale Striche die größten aufgetretenen Abweichungen der normierten Kurven der Einzeltiere eingetragen. Die Normierungsfaktoren lagen zwischen 0,50 und 2,18. Wo in den Legenden von normierten Kurven gesprochen wird, weist dies auf die Normierung auf gleiche Fläche hin.

B. Reaktionen auf rechteckförmige Lichtreize

1. Reaktionen auf Hellimpulse

Die folgenden Messungen sollten Aufschluß darüber geben, wie Größe und Dauer von Hellimpulsen in das ERG der Rüsselkäfer eingehen. Die Hellimpulse wurden meist nicht auf im völligen Dunkel befindliche Augen gegeben, weil dieser Fall weder im optomotorischen Versuch (auch dunkle Streifen eines Streifenzylinders reflektieren Licht) noch beim Bewegungssehen der Käfer im natürlichen Biotop verwirklicht ist, vielmehr wurden die Augen vor der Reizung mit einem Adaptationslicht beleuchtet.

Der Verlauf der Versuche ist in Abb. 3a dargestellt: Das Auge wurde der Adaptationslicht-Intensität Ia ausgesetzt, bis sich konstante Empfindlichkeit eingestellt hatte. Konstante Empfindlichkeit stellte sich in

wenigen Sekunden ein, wenn von tiefen zu hohen Ias übergegangen wurde (s. Kap. C). Dem Adaptationslicht wurde dann ein rechteckförmiger Lichtimpuls der Höhe ΔI und der Dauer Δt-überlagert. Zur Zeit des Lichtimpulses war die das Auge treffende Licht-Intensität = Is. Also galt die Beziehung $\Delta I = Is - Ia$. — Auf ein Adaptationslicht erzeugte das Auge ein Gleichpotential Ua. Auf die Hellstufe des Lichtimpulses folgte nach der Latenzzeit L eine Potentialänderung um maximal ΔU; nach Ende des Lichtimpulses ging das Potential — wiederum nach einer Latenzzeit — auf den ursprünglichen Wert Ua zurück (Abb. 3b). Bei der auftretenden Potentialänderung wurde die Cornea negativ[1] in bezug auf den Körper des Tieres. Das Belichtungspotential der untersuchten Rüsselkäfer hatte somit die von Limulus (HARTLINE 1928), Dixippus (AUTRUM 1950) und anderen Arthropoden bekannte Form eines langsamen monophasischen ERGs.

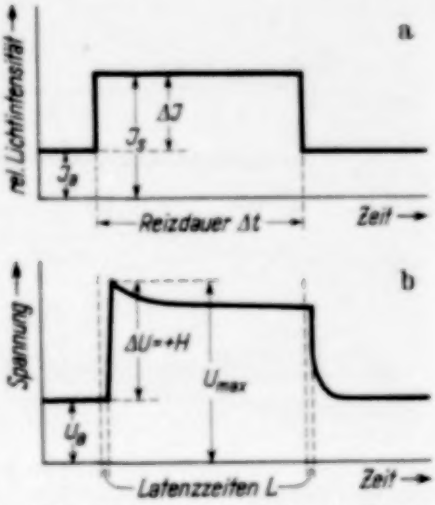


Abb. 3a u. b. a Zeitverlauf der Lichtintensität bei Reizung mit einem Hellimpuls. b Das auf den Hellreiz auftretende monophasische ERG, schematisch

Zur gesamten Reizsituation des Auges gehörten also sowohl eine Adaptationslicht-Intensität als auch die Höhe und die Dauer eines aufgesetzten Lichtimpulses. In der Arbeit sollten nur die Reaktionen auf Helligkeits-*Änderungen* untersucht werden: deshalb wurde die Höhe ΔI eines Lichtimpulses als Reizgröße bezeichnet, die Dauer Δt des Impulses als Reizlänge. Als Maß für die auf einen Lichtimpuls folgende Reaktion wurde die größte auftretende Potentialänderung gewählt, die Amplitude H des ERGs.

Variation von Δt. Ein ERG auf einen Lichtreiz von ≈ 14 sec Dauer zeigt Abb. 4a. Das Potential sprang schnell bis zu seinem höchsten Wert, ging anschließend zunächst schnell, dann langsamer auf einen annähernd konstanten Wert zurück, so daß nach einem Überschwingen ein „Plateau" gebildet wurde. Nach dem Ende des Lichtreizes ging das Potential auf den ursprünglichen Wert Ua zurück. Das Überschwingen war nicht immer so ausgeprägt: bei kleinem $\Delta I/Ia$ trat es nicht auf, die Reaktion war dann ein „Rechteck".

Wie sich die Form der ERGs auf kürzere Reizzeiten bei gleicher Reizgröße veränderte, zeigen Abb. 4b und c. Wie man sieht, war der Anfangsverlauf der Belichtungspotentiale bei Δt größer als 4 msec unabhängig von der Reizzeit; doch fiel das Potential nach kürzeren Reizen entsprechend früher ab. Auf Reize von 4 und 2 msec Dauer

[1] Corneanegative Potentialschwankungen werden immer nach *oben* gezeichnet, corneapositive nach *unten*.

wurde der Anstieg etwas flacher. Das für die vorliegende Reizsituation größtmögliche Potential wurde von $\Delta t = 100$ msec an voll erreicht. — Die Latenzzeit lag zwischen 16 und 24 msec.

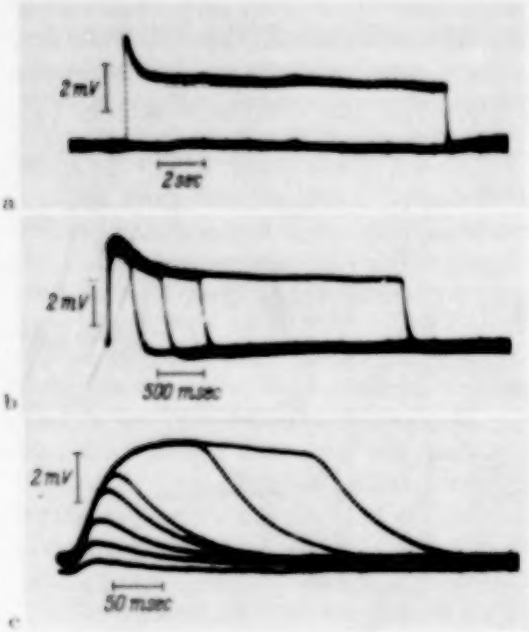


Abb. 4a—c. Chlorophanus. ERGs auf Hellimpulse verschiedener Reizzeiten. ΔI war immer $=30$, $Ia = 3$. Die kleinen Marken in den Linien stammen von einer Skala, die vor dem Schirm des Oscillographen befestigt war (. . . nachträglich eingezeichnet). a Ein einzelnes ERG, $\Delta t \approx 14$ sec. Nullinie gesondert registriert. b Variation der Reizdauer. Mehrere ERGs auf demselben Bild übereinander registriert. $\Delta t = 3$ sec, 1 sec, 500 msec, 200 msec. c Wie b, stärker gedehnte Zeitachse. $\Delta t =$ 200, 100, 40, 20, 10, 4, 2 msec

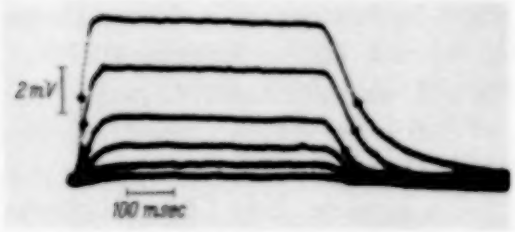


Abb. 5. Hylobius. Variation der Reizgröße. Es waren (von unten nach oben) $\Delta I = 0{,}1$; 0,3; 1; 3; 10; 30; $Ia = 1$; $\Delta t = 500$ msec

Die Latenzzeit von 16—24 msec liegt in der Größenordnung der von früheren Autoren gemessenen Werte: Limulus ≈ 50 msec (HARTLINE 1928), Melanoplus 10—100 msec (WULFF, FREY und LINDE 1943), Periplaneta ≈ 10 msec (WALTHER 1958).

Variation von ΔI. Wie sich die Form der ERGs änderte, wenn man die Reizgröße bei gleicher Reizdauer variierte, zeigt Abb. 5. Die Amplitude nahm mit wachsendem ΔI zu, gleichzeitig wurde der höchste Wert des Potentials nach kürzeren Zeiten erreicht. In 3 ERGs sind die Punkte eingezeichnet, in denen die Hälfte der jeweiligen Amplitude erreicht ist. Wie man sieht, war die Anstiegshalbwertszeit[1] um so kürzer, je größer ΔI war. Sie variierte in den 3 ERGs von 20 bis 40 msec. — Beim Abklingen der Reaktion wurde die Nullinie um so später erreicht, je größer ΔI war. Drei Punkte markieren die jeweilige Abfalls-Halbwertszeit. Diese nahm mit wachsendem ΔI zu, in den 3 ERGs der Abb. 5 von 40 bis zu 80 msec.

Variation von Ia. Im nächsten Versuch wurde die Adaptationslicht-Intensität, mit der das Auge vorbelichtet worden war, variiert; ΔI und Δt wurden konstant gehalten. Wie Abb. 6 zeigt, nahm die Amplitude mit größer werdendem Ia ab. Dabei nahm die Anstiegshalbwertszeit mit wachsendem Ia zu, die Abfallshalbwertszeit dagegen ab.

[1] Die Zeitkonstante wurde nicht zur Charakterisierung herangezogen, weil die An- und Abklingvorgänge keinen genauen exponentiellen Verlauf zeigten.

Ein Vergleich der Abb. 5 und 6 (die Zeitmaßstäbe unterscheiden sich um den Faktor 2) zeigt: Die Amplituden der ERGs vergrößerten sich sowohl beim Vergrößern der Reizgröße und Gleichbleiben der Adaptationslicht-Intensität als auch beim Gleichbleiben der Reizgröße und Verkleinern der Adaptationslicht-Intensität. Die Anstiegs- und Abfallshalbwertszeiten änderten sich mit der Größe der erreichten Amplitude,

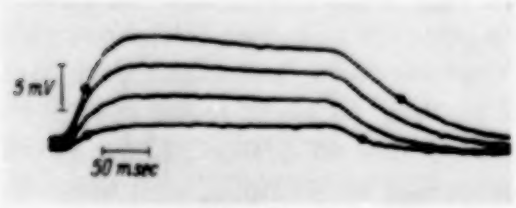


Abb. 6

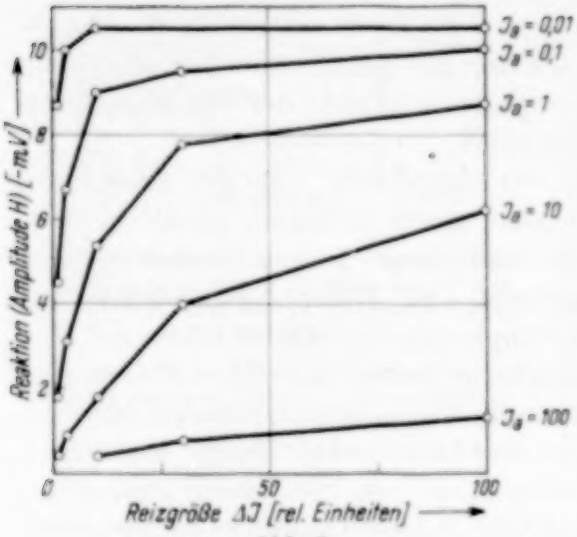


Abb. 8

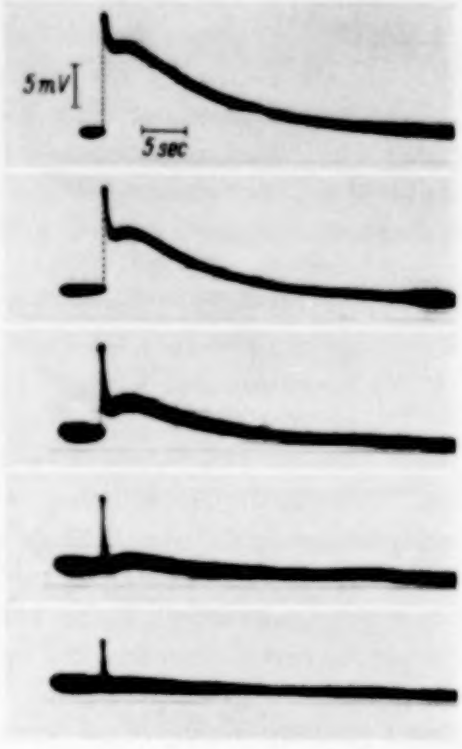


Abb 7

Abb. 6. Chlorophanus. Variation der Adaptationslichtintensität. Es waren von oben nach unten $\Delta I = 10$; $Ia = 0{,}3$; 1; 3; 10; $\Delta t = 200$ msec

Abb. 7. Hylobius. Besondere Form des ERGs: Bei sehr kleinen Adaptationslicht-Intensitäten und großen Reizgrößen tritt ein träges Nachpotential auf. Es verschwindet bei größeren Adaptationslicht-Intensitäten. Es waren (von oben nach unten) $\Delta I = 100$; $Ia = 0$; 0,01; 0,1; 1; 10; $\Delta t = 200$ msec

Abb. 8. Hylobius. Die Abhängigkeit der Amplitude der ERGs von der Reizgröße. Die verschiedenen Kurven gelten für verschiedene Adaptationslicht-Intensitäten. Δt war überall = 200 msec. Meßpunkte von einem Tier

unabhängig davon, ob die Änderung von H durch eine Variation von ΔI oder Ia erreicht wurde: Je größer H, desto *kleiner* war die Anstiegshalbwertszeit, desto *größer* die Abfallshalbwertszeit.

Die Zeit, die vergeht, bis das Potential den höchsten Wert erreicht hat, ist von Art zu Art verschieden: Bei Limulus ≈ 150 msec (Hartline 1928), Dytiscus ≈ 500 msec (Bernhard 1942, Fig. 10), Periplaneta 25—40 msec (Walther 1958), Chlorophanus ≈ 100 msec (Abb. 4). Diese Streuung ist nicht überraschend, da die Zeit, in der der höchste Wert erreicht wird, schon beim einzelnen Tier stark von

den Versuchsbedingungen abhängt (Abb. 4—6). — Eine Besonderheit liegt bei Periplaneta vor: Im Gegensatz zu den Ergebnissen an Hylobius und zu Angaben von BERNHARD (1942, Fig. 12, zwei ERGs aufgenommen im Verlauf der Dunkeladaptation) wird die Anstiegshalbwertszeit bei Periplaneta mit der Helladaptation verkürzt (WALTHER 1958, Abb. 9, Versuche mit Farblichtern).

Im ERG der Rüsselkäfer trat eine träge Komponente auf, wenn Ia sehr klein, ΔI aber sehr groß war. Den schnellen, in 10—200 msec anklingenden Vorgängen folgte dann eine träge Nachreaktion (Abb. 7 oben). Bei längeren Reizzeiten überlagerte sie sich dem Gleichpotential des schnellen Anteils. Die Nachreaktion war klein, wenn man dem Auge Adaptationslichter bot oder war bei großem Ia nicht mehr vorhanden (Abb. 7). Diese Komponente spielte bei den in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen mit Hellimpulsen keine Rolle, weil meist bei kleineren Reizgrößen und größeren Adaptationslicht-Intensitäten gemessen wurde. In den Fällen, in denen sie doch auftrat (z. B. Abb. 8 für $\Delta I = 100$ und $Ia = 0{,}01$), wurden nur die Amplituden der schnellen Vorgänge ausgewertet. — Diese Komponente könnte der von HARTLINE (1928) beschriebenen b-Welle entsprechen.

Die quantitative Abhängigkeit der Amplitude von der Reizgröße zeigt Abb. 8. Die Reizzeit (= 200 msec) wurde konstant gehalten. Bei den verschiedenen Kurven wurde das Auge jeweils verschiedenen Adaptationslicht-Intensitäten ausgesetzt. Bei tiefen Adaptationslicht-Intensitäten ($Ia = 0{,}01$) nahm die Amplitude der ERGs schon im Bereich sehr schwacher Reize sehr stark zu: schon bei $\Delta I = 10$ war ein Sättigungswert erreicht, der nicht mehr überschritten werden konnte. Je größer Ia gewählt wurde, desto unempfindlicher wurde das Auge, desto größere Reizgrößen waren notwendig, um bestimmte Potentialänderungen hervorzurufen. Bei höheren Adaptationslicht-Intensitäten reichten die größtmöglichen Lichtreize meiner Apparatur nicht mehr aus, um einen Sättigungswert zu erreichen.

2. Reaktionen auf Dunkelimpulse

Beim Bewegungssehen von Insekten werden außer den Lichtwechseln von dunkel nach hell auch diejenigen von hell nach dunkel ausgewertet. Wie das ERG von Rüsselkäfern auf Dunkelreize aussieht, soll im folgenden beschrieben werden.

Der Versuchsverlauf ist in Abb. 9a dargestellt. Das Auge wurde einer Adaptationslicht-Intensität Ia ausgesetzt, bis sich konstante Empfindlichkeit eingestellt hatte. Diesem Adaptationslicht wurde ein „Dunkelimpuls" der Höhe $-\Delta I$ überlagert. Es gilt: $\Delta I = Is - Ia$. Da in diesem Fall $Is < Ia$, ist das Vorzeichen von ΔI negativ. Die Reaktion des Auges zeigt Abb. 9b: Auf die Dunkelstufe folgte nach einer Latenzzeit L eine Potential-Änderung $-\Delta U$, auf die anschließende Hellstufe, das Ende des Dunkelreizes, ging das Potential wieder, manch-

mal unter einem Überschwingen, auf den ursprünglichen Wert Ua zurück. Maß für die Reaktion war die größte, auf die Dunkelstufe erfolgte Potentialänderung $-\Delta U$, das Symbol für die Reaktion ist $-H$.

Variation von Δt. Elektroretinogramme auf Dunkelreize verschiedener Dauer Δt zeigt Abb. 10. Zur Zeit des Dunkelimpulses befanden sich die Augen in völliger Dunkelheit: Is war also $=0$. Nach Einsetzen

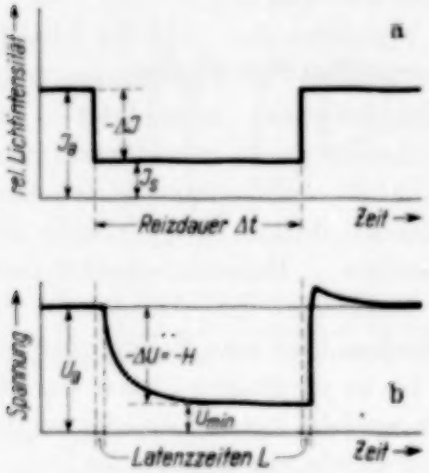


Abb. 9

Abb. 9 a Der Zeitverlauf der Lichtintensität bei einem Dunkelreiz. b Das auf einen Dunkelreiz auftretende ERG, schematisch

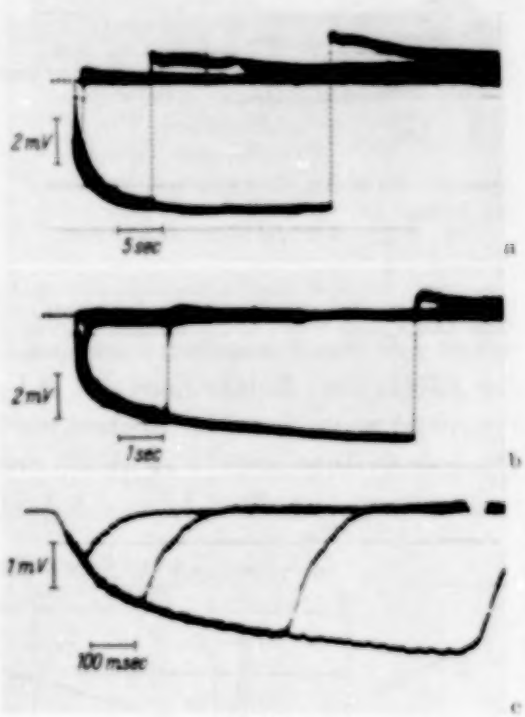


Abb. 10

Abb. 10a—c. Hylobius. Dunkelreize, Variation der Reizzeit. ΔI war immer $=-10$, $Ia=10$. a $\Delta t=30$, 10, 1 sec. b $\Delta t=8$ sec, 2 sec, 200 msec. c $\Delta t=1$ sec, 500 msec, 200 msec, 60 msec

des Dunkelimpulses fiel das Potential im Verlauf von ≈ 10 sec von Ua auf einen während der restlichen Dauer der Dunkelheit konstanten Wert. Nach Ende des Dunkelreizes stieg es wieder im Verlauf von ≈ 100 msec an und erreichte den ursprünglichen Wert von Ua. Dabei trat unter Umständen ein Überschwingen auf, das um so deutlicher war, je länger Δt war (Abb. 10). Bei den Dunkelreizen war der Anfangsverlauf der ERGs unabhängig von den Reizzeiten, das Potential ging nur entsprechend der Reizzeit früher oder später auf den alten Wert Ua zurück.

Das Ende eines Hellimpulses ist eine Dunkelstufe. Entsprechend kann die Reaktion auf das Ende eines Lichtimpulses als Reaktion auf den Beginn eines Dunkelimpulses aufgefaßt werden (vgl. Abb. 3 und 9). Zwischen beiden Reizsituationen besteht jedoch ein Unterschied: Vor Reizung mit einem Dunkelimpuls wurden die Augen so lange der Adaptationslicht-Intensität Ia ausgesetzt, bis sich eine konstante Empfindlichkeit des Auges eingestellt hatte. Die Dunkelstufe am Ende eines Hellreizes dagegen traf auf ein Auge, das nur für die Reizdauer Δt des Hellreizes einer Lichtintensität ausgesetzt war, die dem Ia vor Reizung mit einem Dunkelimpuls entsprach. Da die Zeit, die ein Auge hellbelichtet war, Einfluß

auf die Abklingzeit des Potentials nach Ende der Beleuchtung hat (nach BERNHARD 1942 und AUTRUM 1950 kehrt das negative Potential um so langsamer zum alten Wert zurück, je länger die Reizzeit war), so führen die Dunkelstufen als Ende eines Hellimpulses und die Dunkelstufen als Anfang eines Dunkelimpulses zu verschiedenen Abklingformen der ERGs: Je länger das Auge im Hellen war, desto langsamer stellt sich das Potential nach einer Dunkelstufe auf den neuen Wert ein.

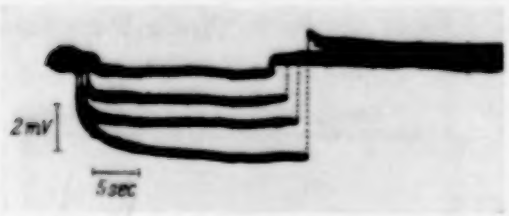


Abb. 11. Hylobius, Dunkelreize, Variation der Reizgröße $-\Delta I$. Es waren $\Delta I = -10$; -9; -7; $-3{,}3$; $I\alpha = 10$; $\Delta t \approx 20$ sec

Variation von $-\Delta I$. In Abb. 11 sind ERGs für verschieden hohe Dunkelimpulse abgebildet. Die Reizzeiten waren rund 20 sec, wurden aber nicht genau gleich lang gemacht, damit die Verläufe der einzelnen Belichtungspotentiale besser verfolgt werden können. Die Reaktion, die Amplitude H, nahm mit zunehmendem $-\Delta I$ zu. Außerdem trat eine Formänderung der ERGs auf: Reizte man mit $\Delta I = -10$, so vergingen 15 sec, bis das Potential einen konstantbleibenden Wert erreicht hatte. Je kleiner die Dunkelreiz-Intensität war, desto schneller wurde ein konstanter Potentialwert erreicht: Für $\Delta I = -3{,}3$ nach weniger als 500 msec.

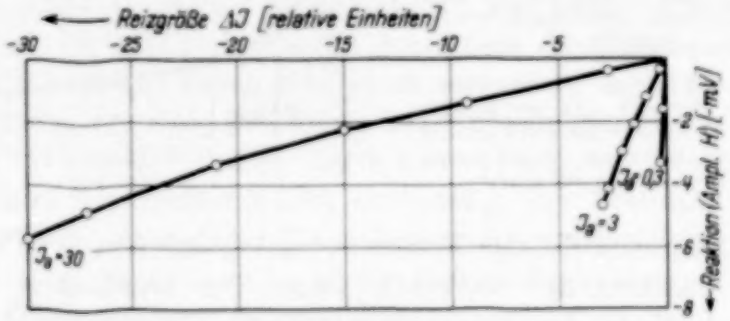


Abb. 12. Hylobius. Dunkelimpulse. Abhängigkeit der Amplitude von der Reizgröße. Die drei verschiedenen Kurven gelten für drei verschiedene Adaptationslicht-Intensitäten. Δt war ≈ 200 msec. Mittelwerte von Messungen an 4 Tieren

Das Abklingen der Potentiale bei völliger Verdunkelung der Augen erfolgte bei Hylobius somit in Zeiten, wie sie von anderen monophasischen ERGs bekannt sind: Dytiscus 30—60 sec (BERNHARD 1942), Dixippus, Tachycines mehrere Sekunden (AUTRUM 1950).

Der in ≈ 15 sec erfolgende Abfall des Potentials bei $\Delta I = -10$ ist wahrscheinlich Ausdruck der trägen Komponente von Abb. 7: In beiden Fällen wurde nach ≈ 15 sec der Endzustand erreicht, und in beiden Fällen verschwand der träge Anteil, wenn das Auge mit der Dunkelstufe nicht in völliges Dunkel kam.

Die quantitative Abhängigkeit der Amplitude H von der Reizgröße der Dunkelimpulse zeigt Abb. 12. Die Reizzeit wurde konstant gehalten (200 msec). Die verschiedenen Kurven beziehen sich, wie in Abb. 8, auf verschiedene Adaptationslicht-Intensitäten. Sie stellen annähernd

Geraden dar, die um so steiler verlaufen, je kleiner Ia gewählt wurde Die erreichte Amplitude hing also bei Dunkelreizen von 200 msec linear

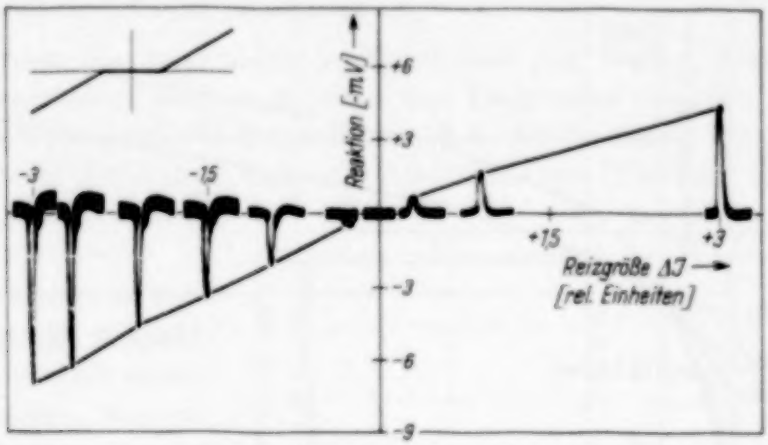


Abb. 13. Hylobius. ERGs auf verschieden große, zeitlich kurze Hell- und Dunkelreiz vorzeichengetreu in ein Koordinatennetz eingezeichnet. Es waren $Ia = 3$, $\Delta t = 200$ msec

von der Reizgröße ab. Die verschiedene Steilheit der Geraden zeigt an, daß die Empfindlichkeit des Auges für Dunkelreize um so größer war, je kleiner Ia war.

3. Gemeinsame Darstellung der Reaktionen auf Hell- und Dunkelimpulse

Zeichnet man Retinogramme auf Hell- und Dunkelimpulse verschiedener Intensität auf den entsprechenden Abszissenwerten eines Koordinatennetzes vorzeichengetreu auf, so beschreiben die Maxima der ERGs direkt den Verlauf der Kurve, die die Abhängigkeit der Amplitude von der Reizgröße angibt (Abb. 13). Die Kurve schneidet die Abszisse in einem Punkt, d.h. es gibt keine mit der erreichten Meßgenauigkeit nachweisbare

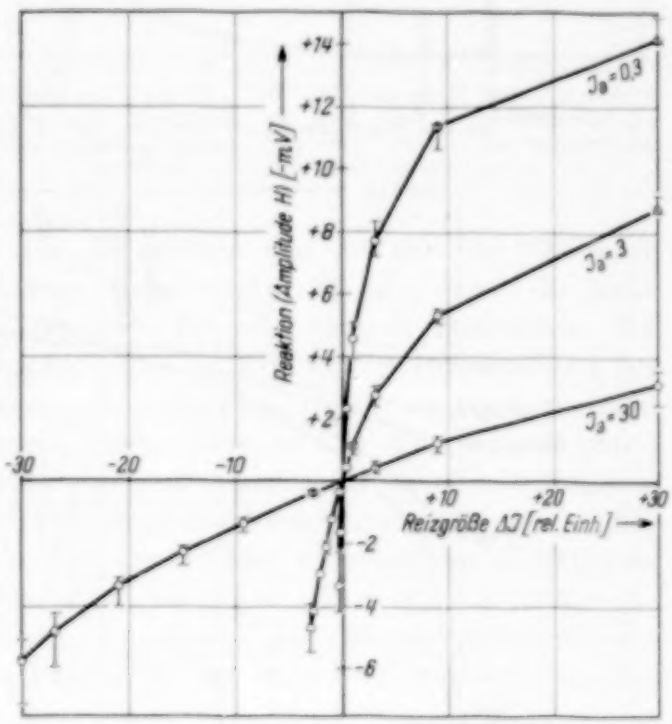


Abb. 14. Hylobius. Die Amplitude der ERGs in Abhängigkeit von der Reizgröße bei verschiedenen Adaptationslicht-Intensitäten. Δt war immer = 200 msec. Mittelwertskurven von 4 Tieren. Die horizontalen Striche geben die größten Abweichungen der normierten Meßkurven an

Schwelle. Läge eine meßbare Schwelle vor, so müßte die Kurve im Bereich des Nullpunktes wie in der Einschaltfigur verlaufen.

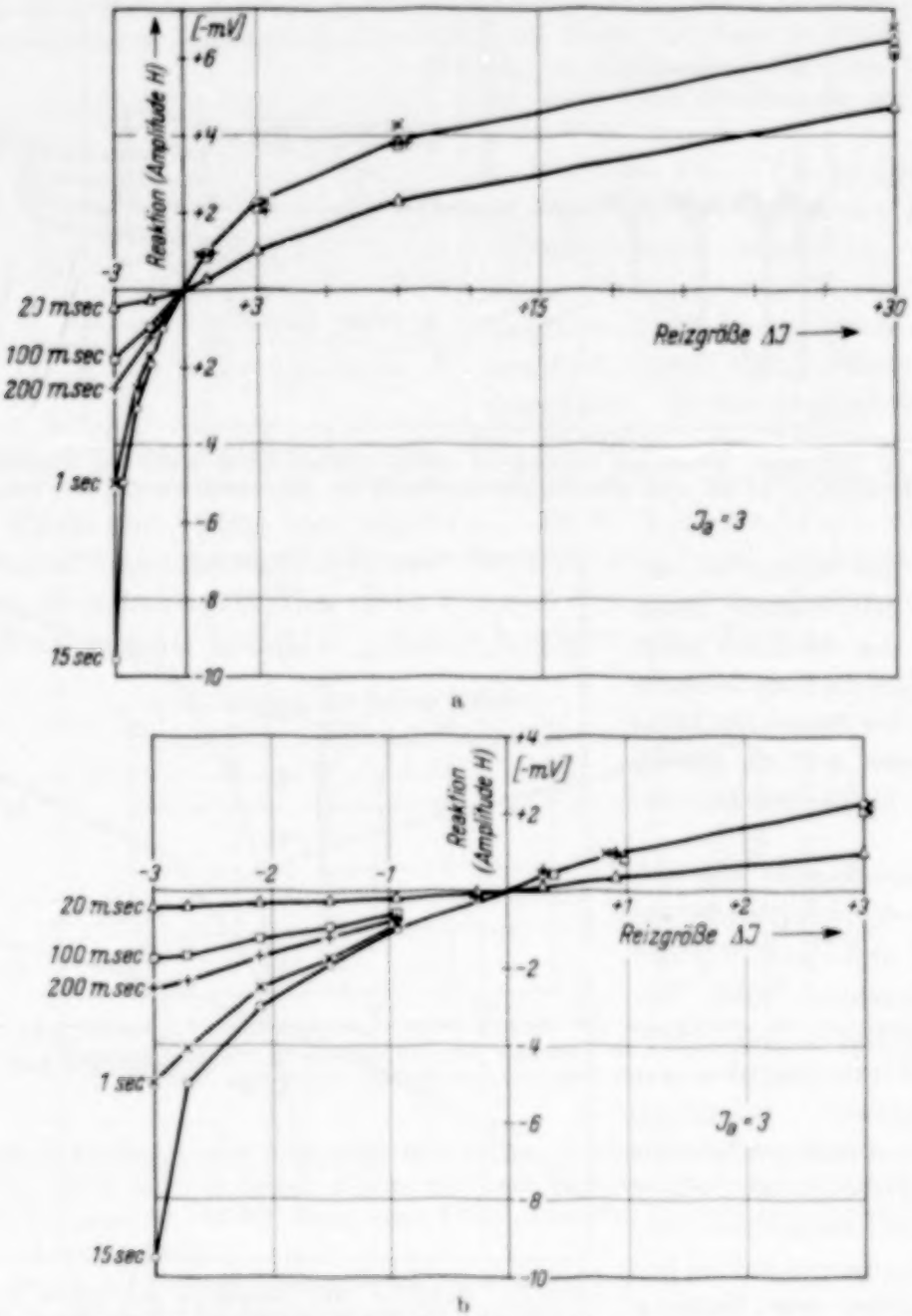


Abb. 15a u. b. Hylobius. Die Abhängigkeit der Amplitude von der Reizgröße. *Ia* war immer −3. Die verschiedenen Punkte gelten für verschiedene Reizzeiten. Meßpunkte von einem Tier. a Der Bereich für ΔI von −3 bis +30. b Der Bereich für ΔI von −3 bis +3

Eine Schwelle im Ursprung des Koordinatensystems ist allerdings auch nicht zu erwarten. Wie sich später zeigen wird (Kap. E), entspricht der „Nullpunkt" einem Dauerpotentialwert aus der allgemeinen Beziehung $U \sim \log I$. Der Null-

punkt wandert je nach der Adaptationslicht-Intensität Ia auf dieser logarithmischen Kurve. Jeder Kurvenpunkt kann zum „Nullpunkt" werden. Der jeweilige „Nullpunkt" zeichnet sich deshalb vor den übrigen Punkten prinzipiell nicht aus, so daß in ihm keine solche Schwelle zu erwarten ist.

Stellt man die quantitativen Ergebnisse der beiden vorigen Abschnitte gemeinsam dar, so entsteht das Diagramm der Abb. 14. Für mehrere Adaptationslicht-Intensitäten, d. h. für mehrere Empfindlichkeits-Zustände der Augen, kann die Amplitude des ERGs für Hell- oder Dunkelimpuls - Größen abgelesen werden.

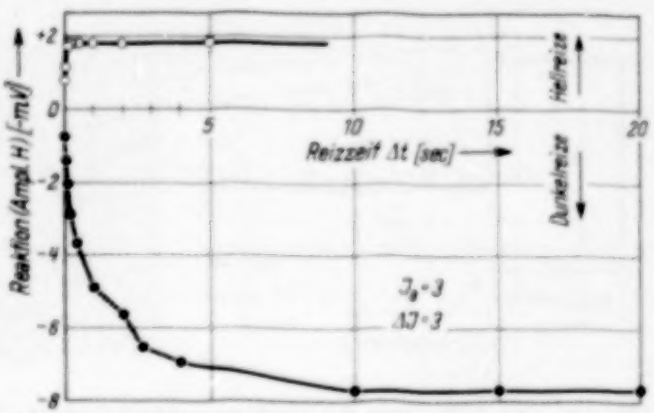


Abb. 16. Hylobius. Die Abhängigkeit der Amplitude von der Reizdauer für Hell- und Dunkelimpulse bei der Adaptationslicht-Intensität $Ia = 3$. ΔI war für die Hellreize $= +3$, für die Dunkelreize $= -3$

Das Diagramm von Abb. 14 bezieht sich auf Reizzeiten von 200 msec. Um zu prüfen, wie es sich ändert, wenn Δt verschiedene Werte annimmt, wurden bei gleichbleibendem Ia Kurven für Reizzeiten von 20 msec bis 15 sec aufgenommen (Abb. 15). Sie zeigen folgendes: Im Bereich für Hellreize änderte sich der Verlauf für Reizzeiten von 15 sec bis 100 msec nicht. Erst bei der sehr kurzen Reizzeit $\Delta t = 20$ msec lagen die Meßpunkte deutlich unter den Punkten für alle übrigen Reizzeiten. Im Bereich der Dunkelreize hingegen war ein Einfluß der Reizzeit auch bei langen Reizzeiten vorhanden: Jede Reizzeit führte zu einer anderen Kurve; je länger die Reizzeit, desto mehr ist die Kurve nach unten gebogen, desto größere Werte von $-H$ wurden für gleiche Dunkelreiz-Intensitäten erreicht. Abb. 15b zeigt die Verhältnisse genauer im Bereich von $\Delta I = -3$ bis $+3$. Der Unterschied zwischen den Reaktionen bei verschiedenen Reizzeiten wird von $\Delta I = -3$ zu $\Delta I = 0$ immer geringer. Die Reaktionen bei $\Delta t = 15$ sec und $\Delta t = 20$ msec unterschieden sich bei $\Delta I = -3$ um den Faktor 20, bei $\Delta I = -1$ nur noch um den Faktor 5.

Die Abhängigkeit der Amplitude von der Reizzeit ist in Abb. 16 dargestellt. Man sieht, daß die Amplitude auf Hellreize bei $\Delta t = 100$ msec den höchsten Wert erreicht hatte und für längere Reizzeiten nicht weiter zunahm. Die Reaktion auf Dunkelreize hingegen wuchs bis zu Reizzeiten von ≈ 10 sec, um erst dann einen konstanten Wert zu erreichen. Ob im Verlauf sehr langer Zeiten (in Minuten bis Stunden) noch ein weiterer, langsam erfolgender Potentialabfall auftrat, konnte nicht mehr

gemessen werden. In so langen Zeiten überlagern sich den Meßpotentialen Nullpunktschwankungen der Verstärker sowie Potentiale, die ihren Ursprung in Polarisationsvorgängen im Gewebe haben.

C. Die Helligkeits-Adaptation

In Kapitel B wurde gezeigt, daß die Empfindlichkeit eines Auges für Lichtimpulse von seiner Vorbelichtung, der Adaptationslicht-Intensität Ia abhängt: Jeder Adaptationslicht-Intensität entsprach eine bestimmte Empfindlichkeit des Auges. Im folgenden Kapitel soll untersucht werden, wie sich eine neue Empfindlichkeit einstellt, wenn man die Adaptationslicht-Intensität sprungartig ändert.

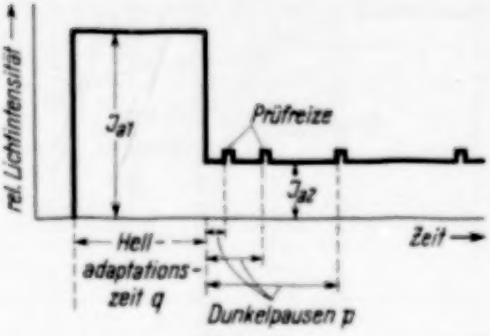


Abb. 17

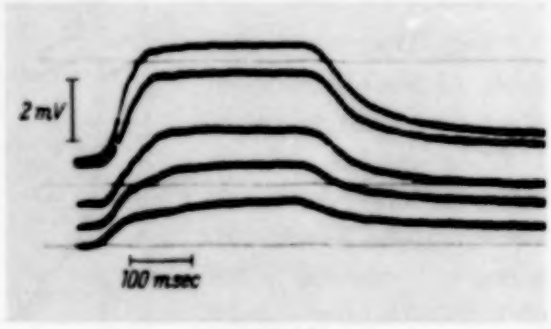


Abb 18

Abb. 17. Der Zeitverlauf der Lichtintensität bei einem Versuch zur Messung des Verlaufs der Dunkeladaptation. Reizgröße und Reizdauer der Prüfreize wie in Abb. 4

Abb. 18. Hylobius. Zunahme der Amplitude des ERGs im Verlauf der Dunkeladaptation. Es waren $Ia_1 = 3$, $Ia_2 = 0$, $q = 300$ sec, ΔI der Testimpulse = 0,1; ΔI der Testimpulse = 200 msec, die Dunkelpausen (von unten nach oben) = 12, 30, 60, 120, 240 sec. Nach jedem Testreiz wurde die Nullinie etwas nach oben verlagert

Die Zunahme der Empfindlichkeit des Auges, die erfolgt, wenn Ia verkleinert wird, kann auf zwei verschiedene Arten gemessen werden. Entweder man gibt nach verschiedenen Zeiten immer den gleichen Lichtimpuls und verfolgt die Zunahme der Reaktion, wobei darauf zu achten ist, daß nie im Bereich der Sättigung gemessen wird. Oder aber man gibt zu verschiedenen Zeiten immer solche Lichtimpulse, daß eine konstante Reaktion hervorgerufen wird. Im zweiten Fall verfolgt man, wie die Reize im Verlauf der Dunkel-Adaptation kleiner werden müssen, um die Einheitsreaktion (z. B. eine Schwellenreaktion) hervorzurufen. Einen Vergleich beider Methoden hat HARTLINE (1947) durchgeführt und fand, daß sich die Ergebnisse beider Methoden bei den Versuchen an Limulus ineinander überführen lassen. Bei den im folgenden geschilderten Messungen wurde mit gleichen Licht-Impulsen gereizt und die Zunahme der Reaktion gemessen. Dieses Verfahren erforderte weniger Meßaufwand: Für jeden Meßpunkt mußte nur ein Prüfreiz gegeben werden.

Die Prüfreize wurden in den folgenden Versuchen so klein gewählt, daß die von ihnen ausgelösten Reaktionen gerade noch gemessen werden konnten. So wurde durch den Prüfreiz der Adaptationszustand des Auges so wenig wie möglich geändert. Gab man in dem weiter unten

beschriebenen Versuch der Abb. 19 (für $q = 300$ sec) nach der Dunkelpause $p = 50$ sec 2 Prüfreize nacheinander im Abstand von ≈ 1 sec, so führten beide zur gleichen Reaktion: Der Adaptationszustand war also vom ersten Prüfreiz nicht merklich verändert worden, sonst hätte die Reaktion auf den zweiten Reiz kleiner sein müssen. (Der Abstand von 1 sec zwischen beiden Prüfreizen war so kurz, daß eine Zunahme der Reaktion auf Grund des Zeitverlaufes der Dunkeladaptation noch nicht

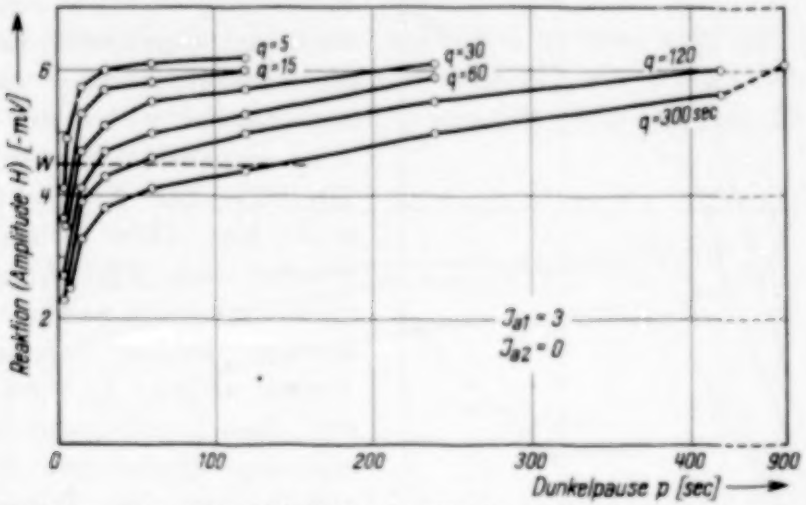


Abb. 19. Hylobius. Die Abhängigkeit der Amplitude von der Dunkelpause, nach der die Testimpulse gegeben wurden. Die verschiedenen Kurven gelten für verschiedene Helladaptationszeiten. Ia_1 war stets = 3, $Ia_2 = 0$. Das ΔI der Testimpulse war = 0,1, das $\Delta t = 200$ msec; $w = 70$—80 % der Endreaktion. Meßpunkte von einem Tier

auftreten konnte.) Im Versuch wurde folgendermaßen vorgegangen: Das dunkeladaptierte Auge wurde für eine bestimmte Zeit q mit einer Lichtintensität Ia_1 helladaptiert. Anschließend wurde die Lichtintensität auf Ia_2 reduziert. Nach verschiedenen Dunkelpausen wurden gleich große Prüfreize gegeben (Abb. 17). — Reaktionen eines Auges auf solche Prüfreize während der Dunkeladaptation zeigt Abb. 18. Die Nullinie wurde der Übersichtlichkeit halber nach jedem Prüfreiz etwas nach oben verlagert. Die Anstiegshalbwertszeit der einzelnen ERGs nahm mit wachsender Dunkeladaptation ab. Es ist dieselbe Gesetzmäßigkeit, die in Abb. 6 dargestellt ist: Je stärker das Auge dunkeladaptiert war, desto kleiner war die Anstiegshalbwertszeit.

1. Sprungweise Helligkeitsabnahme auf völlige Dunkelheit; Variation der Helladaptationszeit

Die Abhängigkeit der Amplitude der ERGs von der Dunkelpause, nach der die Testimpulse gegeben wurden, zeigt Abb. 19. Variiert wurde die Helladaptationszeit q. Die Kurven verlaufen zunächst steil aus dem Nullpunkt, dann, immer flacher werdend, gegen einen gemeinsamen Grenzwert. Je länger die Helladaptationszeit war, desto länger

dauerte es, bis das Auge wieder völlig dunkeladaptiert war, d.h. desto später erreichten die Amplituden gleichbleibende maximale Größe.

Die Sicherung dieses Ergebnisses wurde in diesem Fall nicht so durchgeführt, daß aus allen gemessenen Kurven Mittelwertskurven errechnet und über das in Abschnitt A beschriebene Normierungsverfahren die Abweichung der Meßpunkte vom Mittelwert bestimmt wurde. Statt dessen wurde folgendes, rechnerisch weniger aufwendige Verfahren angewandt: Es wurden die Dunkelpausen p gemessen, die verstrichen, bis die willkürlich gewählte Reaktion $w = 70—80\%$ der Endreaktion erreicht war. (Eine Zeitkonstante konnte zur Charakterisierung nicht verwendet werden, weil die Kurven keinen exponentiellen Verlauf zeigen.) In Abb. 20 ($\times$) sind diese Dunkelpausen für verschiedene Helladaptationszeiten aufgetragen. Die übrigen Meßpunkte stammen von entsprechenden Versuchen an sechs weiteren Tieren.

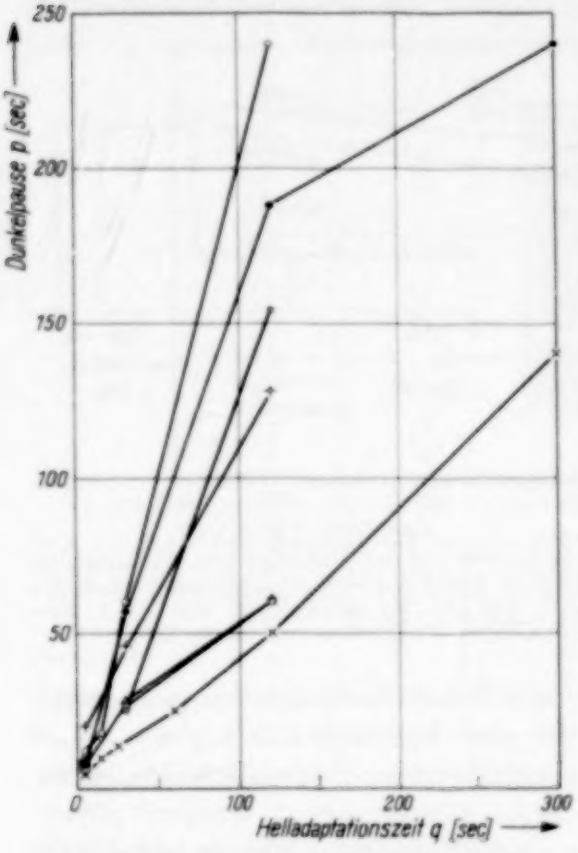


Abb. 20. Die Abhängigkeit der Dunkelpause, nach der die Reaktion w erreicht wurde, von der Helladaptationszeit. Kurven von sechs verschiedenen Exemplaren von Hylobius und einem von Chlorophanus (o). $\times$ Meßpunkte aus Abb. 19. Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bei den Versuchen von Abb. 19

Alle Kurven stellen im Bereich von $q = 0—100$ sec in guter Annäherung Geraden dar. Die Zeit, nach deren Ablauf 70—80% der Endreaktion erreicht worden waren, war demnach proportional zur Dauer der vorhergegangenen Helladaptation. Diese Proportionalität wird nicht bis zu unbegrenzten Werten von q gelten. Die Geraden sind vermutlich nur der Anfang von Kurven, die für große Werte von q parallel zur Abszisse verlaufen. Zum Beispiel dürfte das Auge gleichschnell an Dunkelheit adaptieren, gleichgültig, ob es 2 oder 4 Std helladaptiert wurde.

Die großen Unterschiede in den Steigungen der Geraden haben 2 Ursachen. Einmal traten bei den verschiedenen Tieren individuelle Unterschiede in der Geschwindigkeit der Dunkeladaptation auf. Außerdem hängt die Steigung der Geraden davon ab, welcher Prozentsatz innerhalb des Rahmens von 70—80% der Endreaktion für die Reaktion w angenommen wurde. Hierbei konnte nicht in allen Versuchen genau der gleiche Prozentsatz gewählt werden, weil die Endreaktion

mittels Extrapolation oft nur ungefähr bestimmt werden konnte. Die letzten Kurvenstücke wurden nämlich zum Teil nicht gemessen, um die Versuchsdauer möglichst kurz zu halten.

Die Kurven von Abb. 19 geben dieselbe Gesetzmäßigkeit wieder, die HARTLINE und MCDONALD (1947) an einzelnen Photorezeptoren von Limulus gemessen hatten.

2. Sprungweise Helligkeitsabnahme auf völlige Dunkelheit; Variation der Helladaptationsintensität

Die folgenden Versuche sollten Aufschluß darüber ergeben, wie der Verlauf der Dunkeladaptation geändert wird, wenn statt der Helladaptations-*Zeit* die Helladaptations-*Intensität* variiert wird. In jedem Versuch war $q = 60$ sec.

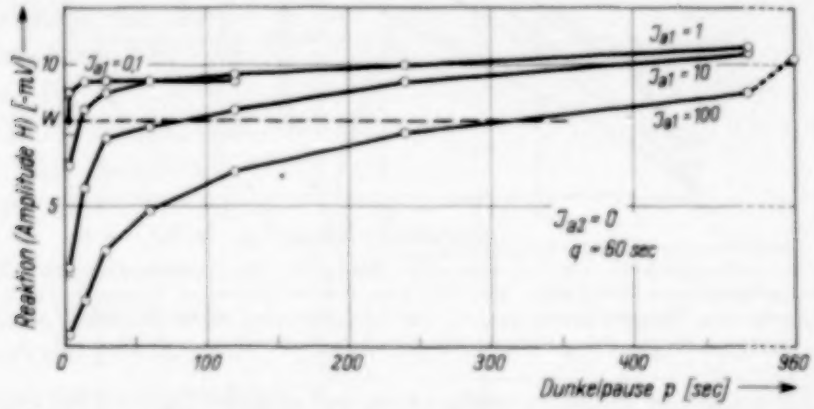


Abb. 21. Hylobius. Die Abhängigkeit der Amplitude von der Dunkelpause, nach der die Testimpulse gegeben wurden, bei verschiedenen Helladaptations-Intensitäten. q war stets = 60 sec, $Ia_2 = 0$. Das ΔI der Testimpulse war = 0,1; das $\Delta t = 200$ msec. Meßpunkte von einem Tier

Nach 60 sec ist das Auge schon völlig helladaptiert (s. später Abschnitt 4); andererseits erfolgte bei $q = 60$ die Adaptation mit mittlerer Geschwindigkeit (vgl. Abb. 19), so daß sich eine Vergrößerung oder Verkleinerung der Adaptationsgeschwindigkeit auf Grund des Einflusses von Ia_1 gut meßbar auswirken mußte.

Die Kurven der Dunkeladaptation verlaufen wie die von Abb. 19 steil aus dem Nullpunkt und nähern sich, flacher werdend, einem Grenzwert (Abb. 21). Je größer die Helladaptations-Intensität gewählt worden war, desto später erreichten die Amplituden gleichbleibende Größe.

Die Dunkelpausen, nach denen 70—80% der bei völliger Dunkeladaptation auftretenden Reaktion erreicht wurden, sind für 6 Tiere in Abb. 22 eingezeichnet. Die Kurven verlaufen, leicht gekrümmt, für wachsende Helladaptations-Intensitäten zu immer größeren Dunkelpausen.

Die Ergebnisse dieses Abschnitts decken sich qualitativ ebenfalls mit den Messungen an Limulus (HARTLINE und MCDONALD 1947). Außerdem sprechen die Versuchsergebnisse von Abschnitt 1 und 2 dafür, daß bei den Rüsselkäfern,

in einem gewissen Bereich ebenso wie bei Limulus das Produkt aus Helladaptations-Intensität und Helladaptationszeit den Verlauf der Dunkeladaptation determiniert („reciprocity law"). Es wurde jedoch nicht direkt geprüft, ob sich verschiedene Adaptationskurven auch wirklich decken, sofern das Produkt aus $Ia_1 \times q$ konstant gehalten wird.

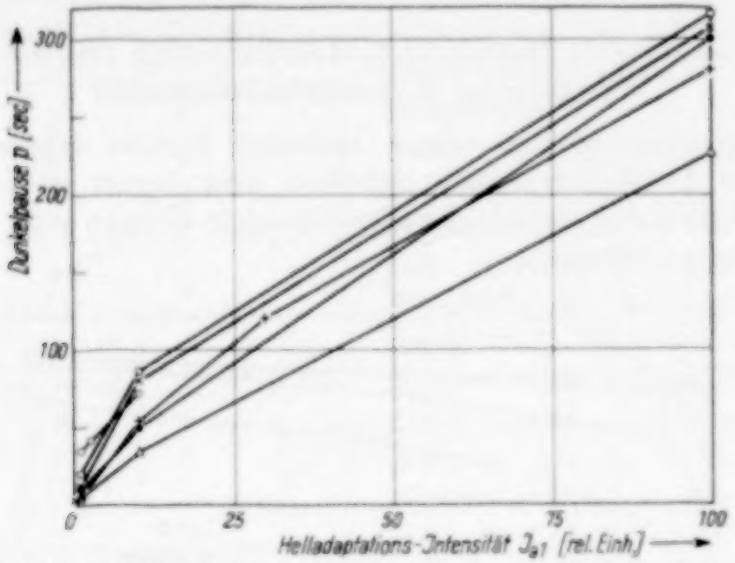


Abb. 22. Die Abhängigkeit der Dunkelpause, nach der die Reaktion w erreicht wurde, von der Helladaptations-Intensität. Kurven von 5 verschiedenen Exemplaren von Hylobius und einem von Chlorophanus (o). ×: Messpunkte aus Abb. 21. Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bei den Versuchen von Abb. 21

3. Sprungweise Helligkeitsabnahme auf eine geringere Helligkeit

Es war weiter zu prüfen, wie sich die Kurvenform des Dunkeladaptationsverlaufes ändert, wenn das Auge vom Hellen nicht in völliges Dunkel gebracht, wenn Ia_2 also nicht gleich 0 gemacht wird, sondern einen endlichen Wert behält. Dieser Versuch war aus 2 Gründen von Interesse: Einmal wurde während der Experimente mehrmals von größeren zu kleineren Adaptationslicht-Intensitäten übergegangen, und es sollte deshalb geprüft werden, wie schnell in diesem Fall die Dunkeladaptation abgeschlossen ist. Zum anderen spielt im natürlichen Biotop der Tiere nicht die Adaptation an völlige Dunkelheit, sondern die an kleine Lichtintensitäten eine Rolle.

Bei den folgenden Versuchen wurden die Tiere 30—60 min an völlige Dunkelheit, dann für 120 sec an ein Ia_1 von 10 hell adaptiert.

Nachdem sich bei den in den vorigen Kapiteln beschriebenen Versuchen erwiesen hatte, daß die Zeit, in der die Dunkeladaptation abgeschlossen worden war, sehr stark von den Versuchsbedingungen abhing, war bei diesem Experiment damit zu rechnen, daß sich die Adaptationsgeschwindigkeit für die größeren Werte von Ia_2 vergrößern würde. Deshalb wurden q und Ia_1 von vornherein groß gewählt, damit die Adaptationsverläufe noch möglichst gut meßbar sein sollten.

Anschließend wurden die Augen den Intensitäten $Ia_2 = 0$; 0,1 und 1 ausgesetzt, und die Verläufe der Dunkeladaptation aufgenommen

(Abb. 23). Die Kurven verlaufen vom Nullpunkt aus ansteigend zu größeren Reaktionen. Sie unterscheiden sich darin, daß die nach 900 sec erreichten Endwerte um so niedriger liegen, je größer Ia_2 gewählt worden war. Dies erklärt sich aus der Tatsache, daß die Testimpulse bei allen Messungen gleich groß waren, und deshalb für verschiedene Vorbelichtungen zu verschiedenen Reaktionen führen mußten (s. Kap. B). Die Kurven zeigen außerdem an, daß der größte Teil der Dunkeladaptation für verschiedene Werte von Ia_2 in verschiedenen Zeiten vor sich ging: Für $Ia_2 = 0$ wurden 80% der Endreaktion nach 180 sec erreicht, für $Ia_2 = 0{,}1$ schon nach 50 sec, für $Ia_2 = 1$ in Sekundenschnelle.

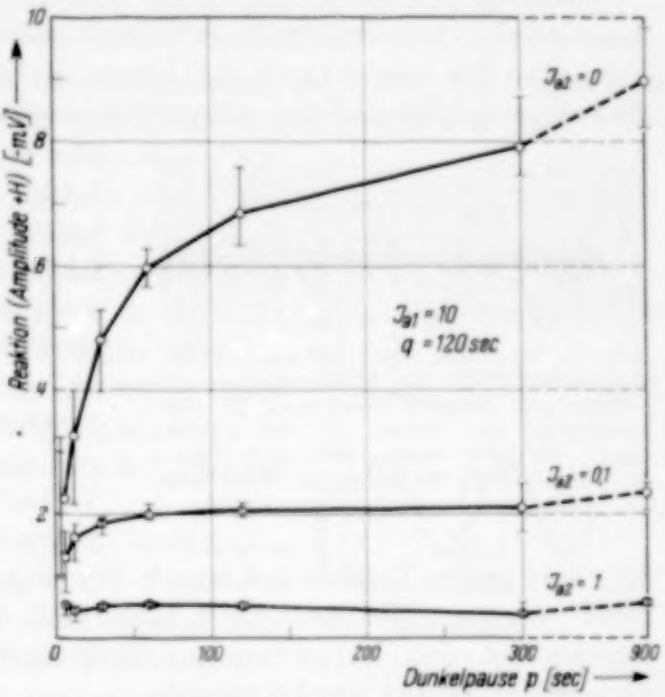


Abb. 23. Hylobius. Die Abhängigkeit der Amplitude der ERGs von der Dunkelpause, nach der die Testimpulse gegeben wurden, für drei verschiedene Werte von Ia_2. Es waren $Ia_1 = 10$, $q = 120$ sec. Die Testimpulse hatten die Größe $\Delta I = 0{,}3$ und die Dauer $\Delta t = 200$ msec. Mittelwerte der normierten Kurven von 5 Tieren

4. Die Helladaptation

In den Versuchen der drei vorigen Abschnitte war gemessen worden, wie schnell sich ein Auge auf die neue Empfindlichkeit einstellte, wenn man es vom Hellen ins Dunklere brachte. Das Ergebnis des Abschnittes 1, wonach die Dunkeladaptation um so längere Zeit in Anspruch nahm, je länger zuvor helladaptiert worden war, warf die Frage auf, ob der Grund dafür darin liegt, daß die Helladaptation in den für q gewählten Zeiten noch nicht abgeschlossen war. Diese Frage, die Frage nach der Kinetik der Helladaptation, sollten die folgenden Experimente klären.

Das Versuchsprogramm veranschaulicht Abb. 24 oben. Der Verstärker des verwandten Oszillographen wurde als Wechselstromverstärker geschaltet, um den Elektronenstrahl nach größeren Auslenkungen sofort wieder ins Gesichtsfeld zurückzuholen. Die ERGs erscheinen deshalb „diphasisch". Das Auge wurde 30 min an $Ia_1 = 0$ dunkeladaptiert, dann wurde ein Lichtimpuls der Größe $\Delta I = 10$ und der Dauer $\Delta t = 200$ msec gegeben. Die Reaktion auf diesen Reiz war so groß, daß der Verstärker übersteuert wurde. Anschließend wurde $Ia_1 = 0$ auf

$Ia_2 = 10$ erhöht, danach wurden in regelmäßigen Abständen Prüfreize gegeben. Die Reaktion auf den ersten Prüfreiz nach der Erhöhung von Ia war etwas kleiner als die Reaktion auf die folgenden. Nach 2 sec blieben die Impulsantworten völlig gleich. Die Empfindlichkeit hatte sich also nach 2 sec auf einen konstanten Wert eingestellt, d.h. die Helladaptation war in wenigen Sekunden abgeschlossen.

Somit ist die zu Anfang dieses Abschnittes gestellte Frage so zu beantworten: Der verschiedene Verlauf der Dunkeladaptation bei den Versuchen des ersten Abschnitts rührte nicht daher, daß am Ende der Helladaptation *verschiedene* Adaptationszustände erreicht worden waren.

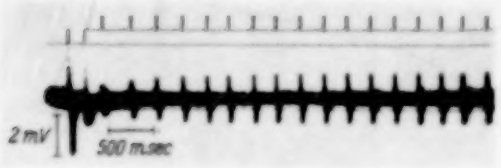


Abb. 24. Hylobius. Zum Verlauf der Helladaptation. Oben: das Lichtprogramm. Die senkrechten Striche bezeichnen je einen Testimpuls der Größe $\Delta I = 10$ und der Dauer $\Delta t = 200$ msec. Es waren $Ia_1 = 0$, $Ia_2 = 10$. Unten: die durch das obige Lichtprogramm hervorgerufenen ERGs

Der zu Beginn der Dunkeladaptation erreichte Adaptationszustand war bei den Versuchen Abb. 19 immer derselbe. Vielmehr bestimmte die Zeit, während der das Auge auf dem jeweiligen Empfindlichkeitszustand gehalten wurde, eine physiologische Größe, die den verschiedenen Verlauf der Dunkeladaptationskurven (Abb. 19) bedingte. — Eine mit großer Trägheit erfolgende Pigmentwanderung konnte hierfür nicht verantwortlich sein, sonst hätte auch die Reaktion auf die Testimpulse bei den Versuchen zur Helladaptation mit der Pigmentverlagerung kleiner werden müssen.

Der Verlauf der Adaptation bei der Lichtwachstumsreaktion des Pilzes Phycomyces gehorcht einfacheren Gesetzmäßigkeiten. Der Adaptationszustand $A(t)$ ist dort mit der Lichtintensität $I(t)$ durch die Differentialgleichung

$$\frac{dA}{dt} = \frac{(I - A)}{b}$$

b = Zeitkonstante = 3,8 min

verbunden (DELBRÜCK und REICHARDT 1956). Wird I stufenförmig verkleinert, so ergibt die Lösung der Differentialgleichung, daß die Pflanze vom Adaptationszustand A_1 exponentiell in den neuen Adaptationszustand A_2 übergeht. Der Adaptationsverlauf wird dabei allein von der einen *Zeitkonstanten* b bestimmt; d.h. der zeitliche Verlauf der Adaptation hängt nicht davon ab, für wie lange die Pflanze auf dem Adaptationszustand A_1 gehalten wurde. Die Zeitkonstante ist außerdem unabhängig davon, wie groß der Sprung von hell nach dunkel ist. — Würde die Adaptation bei Hylobius derselben Gesetzmäßigkeit gehorchen, so hätten die Kurven Abb. 19 alle zusammenfallen müssen; bei den Versuchen Abb. 23 hätten 80% der Endreaktion nach gleichen Zeiten erreicht worden sein müssen. — Der Vergleich zwischen dem Adaptationsverhalten von Phycomyces und dem von Limulus (Hylobius zeigte in allen geprüften Fällen das gleiche Adaptationsverhalten wie Limulus, s. Abschnitt 1 und 2) wurde in der oben zitierten Arbeit durchgeführt.

D. Reaktionen auf sinusförmige Lichtreize

Die Darstellung der Meßergebnisse gliedert sich in 3 Teile. Im 1. Abschnitt werden die auf Reizung mit Sinuslicht auftretenden Formen des ERGs beschrieben. Im 2. werden die Amplituden-Frequenzgänge, im 3. die Phasen-Frequenzgänge dargestellt. — Auf den Aussagewert von Versuchen mit Sinuslicht wird in den Kapiteln F und G näher eingegangen werden.

1. Form der Elektroretinogramme

Die Reiz- und Reaktionsgrößen zeigt Abb. 25. Die Amplitude $\Delta I = I_2 - I_1$ des Sinuslichtes wird als Reizgröße bezeichnet. Die Periode ist T, die Frequenz $f = 1/T$. Die Augen reagierten auf diese Reizung mit einem sich periodisch ändernden Potential. Die Amplitude P der Potentialschwankungen, die nicht immer sinusförmig waren, wie in Abb. 25, wurde als Maß für die Reaktion gewählt. Die Maxima der ERGs traten zeitlich etwas nach den Maxima des Reizes auf, Maß für die zeitliche Verschiebung ist der Phasenwinkel α.

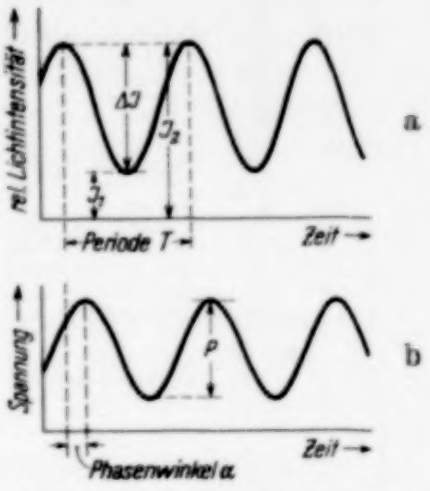


Abb. 25. a Der Zeitverlauf der Lichtintensität bei Reizung mit Sinuslicht. b Das durch das Sinuslicht hervorgerufene ERG, schematisch

Die Abb. 26 und 27 zeigen Reaktionen auf Sinuslicht bei Variation der Parameter f, ΔI und I_1. In Abb. 26 sind Oszillogramme auf Reizlichter verschiedener Frequenz, konstanter Reizgröße ΔI und variierter Minimal-Intensität I_1 abgebildet. Es traten verschiedene Formen des ERGs auf: Entweder waren die Kurven am oberen Umkehrpunkt abgerundet, am unteren mehr oder weniger spitz (z. B. für $I_1 = 0$; f = 0,027 Hz); oder die Reaktion war angenähert sinusförmig. Die Licht-Intensität wurde im letzten Fall also linear in Spannung übersetzt (z. B. $I_1 = 10$; $f = 0{,}5$ Hz). Zwischen diesen beiden Formen gab es kontinuierliche Übergänge. Außerdem trat bei höheren Frequenzen und kleineren Reaktionen (Abb. 26 $I_1 = 0{,}1$; 10 Hz) noch eine weitere Form auf: Das ERG hatte die Form eines „Sägezahnes".

Den ERGs der ersten beiden Typen ist gemeinsam, daß senkrechte Achsen durch Maxima und Minima Symmetrieachsen sind: Die Reaktion auf sinusförmig ansteigendes Licht verlief symmetrisch zur Reaktion auf sinusförmig abfallendes Licht. Dieses Ergebnis war nicht vorauszusehen: Auf Grund der Verschiedenheit von Anstiegs- und Abfallshalbwertszeit bei Reizung mit Lichtimpulsen (Abb. 5, 6) wäre zu erwarten gewesen, daß das Potential dem Sinuslicht beim Hellerwerden folgen, beim Dunklerwerden aber nachhinken würde, so daß insgesamt asymmetrische Reaktionen zustande kommen müßten. — Eine Deutung für dieses Verhalten bietet der Versuch von Abb. 11: Je kleiner der Sprung von hell nach dunkel, desto

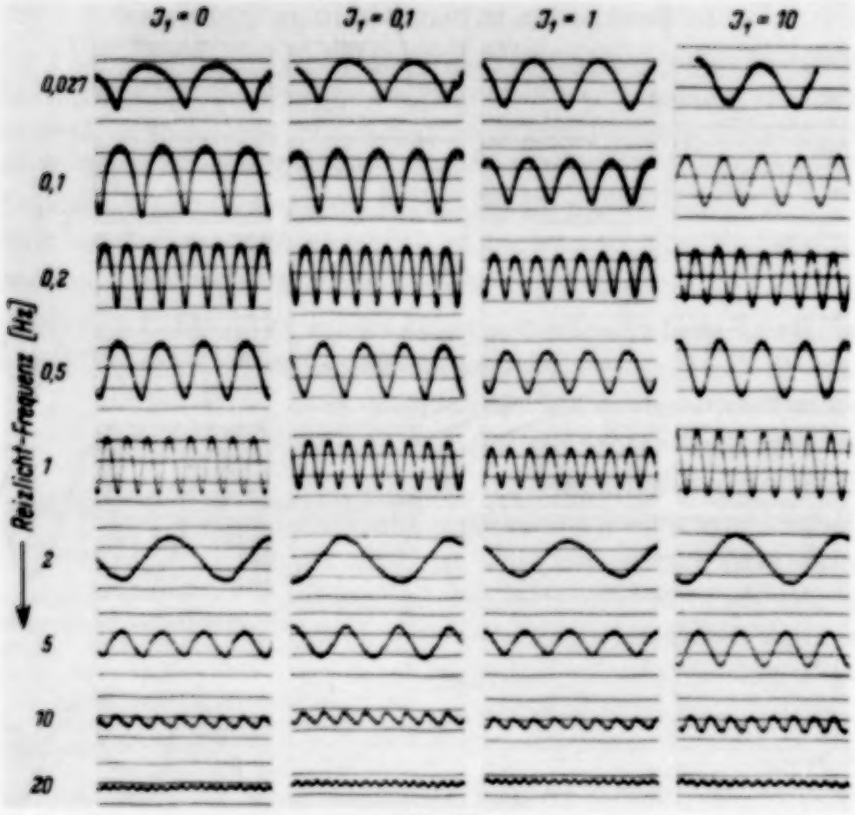


Abb. 26

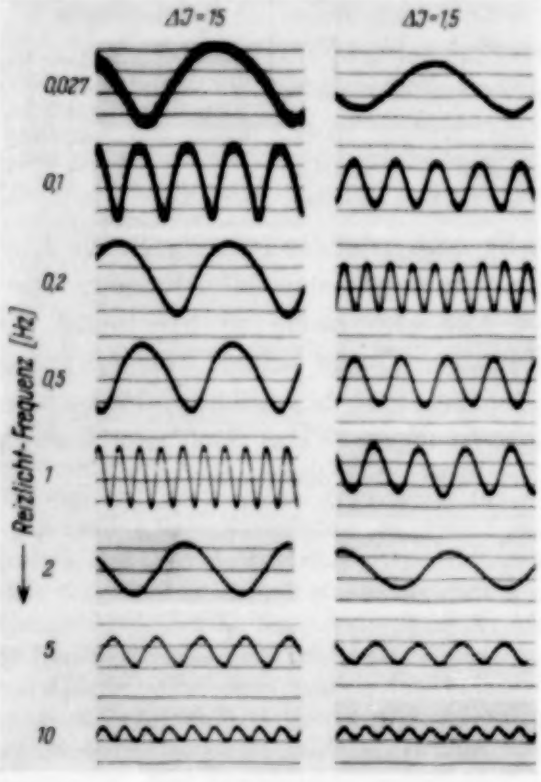


Abb. 27

Abb. 26. Hylobius. ERGs auf sinusförmige Reizlichter verschiedener Frequenzen und Minimal-Intensitäten. *J1* war immer = 15. Die Abbildung soll allein die *Form* der Kurven zeigen. Spannungs- und Zeitmaßstab wurden so variiert, daß alle ERGs in möglichst ähnlichen Größenverhältnissen erscheinen. Bei den untersten war dies nicht mehr möglich

Abb. 27. Hylobius. ERGs auf sinusförmige Reizlichter verschiedener Frequenzen und Reizgrößen. I_1 war immer = 1

schneller folgte das Potential (desto kleiner wurde die Halbwertszeit). Beim Abfallen des Sinuslichts werden viele, *unendlich kleine „Sprünge"* durchlaufen, so daß die Abfallshalbwertszeiten immer klein bleiben. Das Potential kann deshalb dem Licht ohne Verzögerung folgen.

Bei den Versuchen von Abb. 26 erfolgte der Übergang von der im unteren Umkehrpunkt spitzen ERG-Form zur sinusförmigen, wenn man die Reizlicht-Frequenz bzw. wenn man die Minimal-Intensität vergrößerte.

Abb. 27 zeigt Oszillogramme wie Abb. 26 mit dem Unterschied, daß die Minimal-Intensität konstant gehalten und die Reizgröße variiert wurde. In diesem Fall war die Übertragung bei kleinerer Reizgröße mehr linear. Der Vergleich der Abb. 26 und 27 zeigt, daß die Form der ERGs von der Reizlicht-Frequenz und dem *Verhältnis* von $\Delta I/I_1$ abhing. Für $\Delta I/I_1 = 1{,}5$ war die Übertragung über den gesamten Frequenzbereich linear; *je größer das Verhältnis von* $\Delta I/I_1$, *desto mehr wurde die Übertragung nichtlinear.*

2. Amplituden-Frequenzvorgänge

Die quantitative Abhängigkeit der Amplituden P von der Reizlicht-Frequenz bei Variationen von ΔI und I_1 zeigen die Abb. 28—30. Im Versuch der Abb. 28 wurden stets gleiche Minimal-Intensitäten I_1 gewählt und die Frequenzgänge für $\Delta I = 15$; 1,5 und 0,15 aufgenommen. Die Kurve für $\Delta I = 1{,}5$ verläuft — über logarithmischer Frequenzskala aufgetragen — von tiefen zu hohen Frequenzen zunächst waagerecht, um ab 0,5 Hz zu kleineren Reaktionen abzufallen. Den gleichen Verlauf zeigt der Amplituden-Frequenzgang für $\Delta I = 0{,}15$; sämtliche Reaktionen sind jedoch schwächer. Die Reaktionen auf $\Delta I = 15$ sind für alle Frequenzen größer als die übrigen. Die Kurve steigt auch noch im Gegensatz zu den beiden anderen von 1 Hz zu langsameren Frequenzen weiter an.

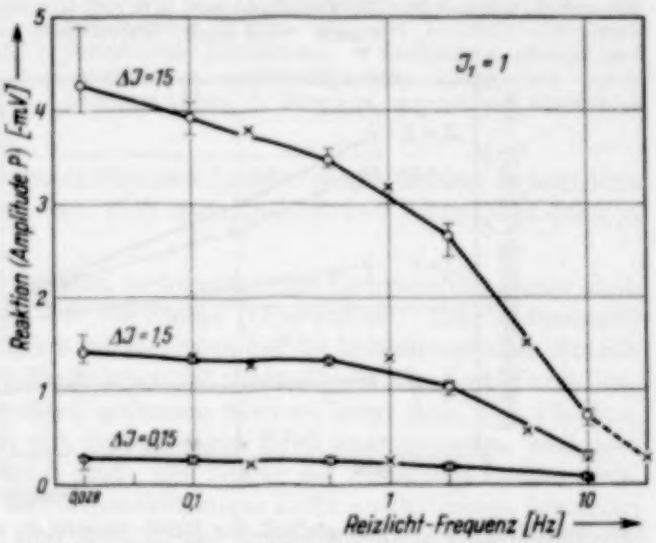


Abb. 28. Hylobius. Abhängigkeit der ERG-Amplitude von der Frequenz des Sinuslichts. Drei Kurven für verschiedene Werte von ΔI. I_1 war stets $= 1.0$ = Mittelwerte aus Messungen an 4 Tieren, die horizontalen Striche bezeichnen die größten Abweichungen der normierten Meßkurven. × Zwischenwerte von einem Tier

Die Amplitude wuchs mit der Reizgröße. Sie war (an der Stelle 1 Hz) bei

$$\Delta I = 0{,}15 : 0{,}23 \text{ mV}$$
$$\Delta I = 1{,}5 : 1{,}2 \text{ mV}$$
$$\Delta I = 15 : 3{,}1 \text{ mV}$$

P wuchs somit nur um den Faktor 14, obwohl ΔI um den Faktor 100 vergrößert worden war. Dafür ist die Zunahme der mittleren Helligkeit

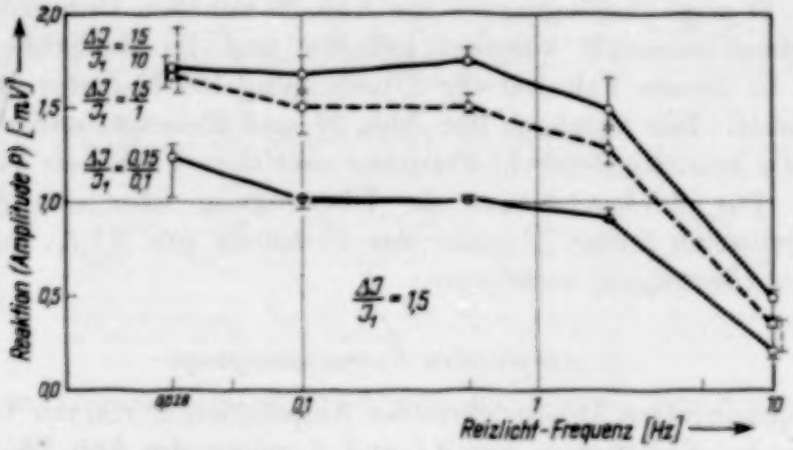


Abb. 29. Hylobius. Abhängigkeit der ERG-Amplitude von der Frequenz des Sinuslichts. ΔI und I_1 wurden für die verschiedenen Kurven so variiert, daß das Verhältnis ΔI zu I_1 immer $=1{,}5$ blieb. Mittelwerte von 4 Tieren

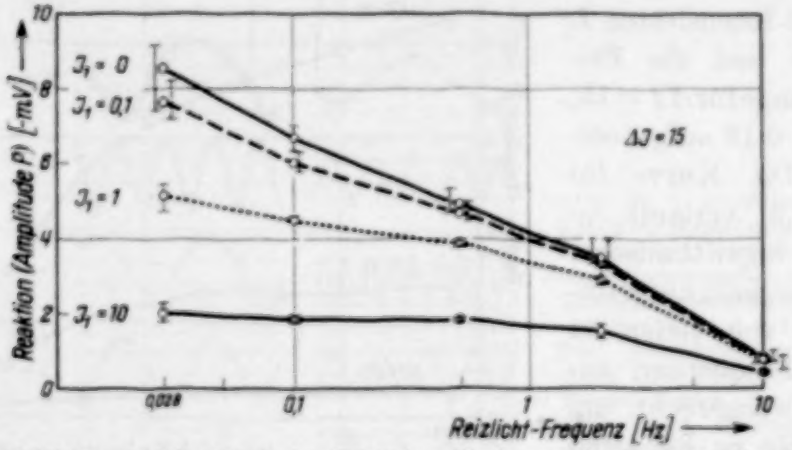


Abb. 30. Hylobius. Abhängigkeit der ERG-Amplitude von der Frequenz des Sinuslichts. ΔI war $=15$. Die Kurven beziehen sich auf vier verschiedene Werte von I_1. Mittelwerte von 4 Tieren

verantwortlich. Diese nimmt nämlich zu, wenn ΔI vergrößert, I_1 aber konstant gehalten wird. Die Zunahme der mittleren Helligkeit wirkte somit verkleinernd auf die Amplitude der Reaktion, wie die Vergrößerung der Adaptationslicht-Intensität bei der Reizung mit Rechteck-Impulsen (s. Kap. B). Genauere quantitative Zusammenhänge über den Einfluß der mittleren Helligkeit wurden noch nicht gemessen.

Abb. 29 zeigt drei weitere Frequenzgänge. Konstant gehalten wurde bei allen Versuchen das Verhältnis $\Delta I/I_1 = 1{,}5$; variiert wurden ΔI und I_1 um jeweils denselben Faktor, insgesamt um 2 Zehnerpotenzen. Trotzdem stieg die Reaktion nicht einmal auf das Doppelte. Alle 3 Kurven zeigen den gleichen Verlauf wie die schon besprochene Kurve für $\Delta I = 1{,}5$ in Abb. 28.

Im Versuch der Abb. 30 schließlich wurde die Reizgröße $\Delta I = 15$ konstant gehalten. Die oberste Kurve ist der Frequenzgang für $I_1 = 0$. Dabei ist das Auge im Minimum des Sinuslichts völlig im Dunkeln. Die Kurve verläuft mit der Reizlicht-Frequenz zu immer kleineren Reaktionen. Je mehr jedoch I_1 vergrößert wurde, desto mehr näherte sich der Verlauf der Kurven denen von Abb. 29. — Die Deutung der Kurvenverläufe folgt in den Kapiteln F und G.

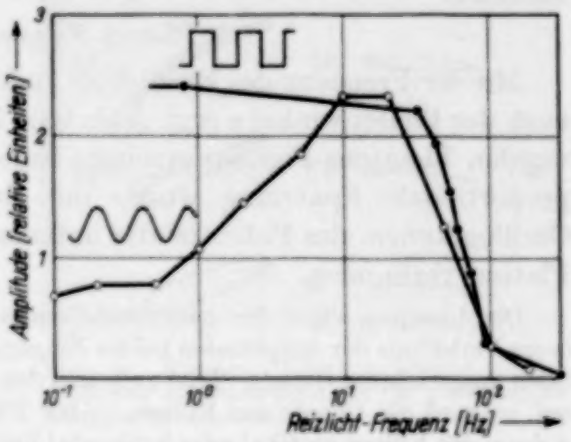


Abb. 31. Die Abhängigkeit der Amplitude des *diphasischen* ERGs von der Reizlicht-Frequenz periodischer Lichtreize. ● Calliphora, gereizt mit periodischen rechteckförmigen Lichtreizen (nach AUTRUM 1950). ○ Tabanus, gereizt mit Sinuslicht

Um beurteilen zu können, ob die Käferaugen langsame oder niederfrequente Lichtwechsel zu beantworten vermögen, durfte nicht mit periodischen rechteckförmigen Lichtwechseln tieferer Frequenzen gereizt werden, weil der Wechsel von Hell nach Dunkel und umgekehrt dann ja immer stufenförmig erfolgt.

Nach FOURIER enthalten periodische, rechteckförmige Lichtwechsel immer auch Anteile höherer Frequenz als die der Rechtecke (Oberwellen). Eine auftretende Reaktion könnte also immer lediglich die Reaktion auf die höherfrequenten Anteile sein. Welche Unterschiede in den Reaktionen auf oberwellenhaltige und oberwellenfreie (d.h. sinusförmige Lichtwechsel) auftreten können, zeigt Abb. 31. Die Frequenzgänge wurden an Insekten mit diphasischem ERG aufgenommen, weil dort die Unterschiede besonders deutlich sind. Die Kurve auf Sinuslicht (weiße Meßpunkte) wurde an Tabanus, die auf rechteckförmiges Licht an Calliphora gemessen [die Meßpunkte von Calliphora sind Abb. 27 der Arbeit AUTRUMs (1950) entnommen]. Beide Kurven zeigen bei hohen Reizlicht-Frequenzen annähernd den gleichen Verlauf. Sie steigen mit abnehmender Frequenz steil zu größeren Reaktionen an. Von 10 Hz ab zu tieferen Frequenzen tritt jedoch ein immer größer werdender Unterschied im Verlauf beider Kurven auf. Die Kurve auf das sinusförmige Reizlicht fällt mehr und mehr zu kleinen Amplituden ab, die Kurve auf Reizung mit Rechtecken dagegen nicht. Der Unterschied beider Kurven bei niederen Frequenzen kann nur auf dem Oberwellengehalt der Rechtecke beruhen. Obwohl die Sinneszellen auf langsame Lichtwechsel nur noch schwach reagieren, täuschen die Oberwellen eine starke Reaktion vor. Die Deckung der Kurven im Bereich hoher Frequenzen erklärt sich aus der Tatsache, daß bei periodischen Rechtecken die

1. Oberwelle die 3fache Frequenz und $^1/_3$ der Amplitude der Grundwelle besitzt (s. z. B. KÜPFMÜLLER, S. 8). Die Ordinate an der Stelle 50 Hz enthält die Reaktion auf Sinuslicht von 50 Hz. Dazu kommt noch der Einfluß der 1. Oberwelle. Diese hat eine Frequenz von $3 \times 50 = 150$ Hz. Auf Licht der Frequenz von 150 Hz ist die Reaktion aber bereits so klein, daß dadurch kein Einfluß auf die Gesamtreaktion mehr ausgeübt wird. Das gleiche gilt für alle weiteren Oberwellen. Deshalb kann bei der Analyse des oberen Frequenzbereichs (z. B. zum Bestimmen von Grenzflimmerfrequenzen) mit Rechtecken gereizt werden: Die Oberwellen wirken sich nicht mehr aus. Je tiefer die Frequenzen aber werden, desto größer wird der Einfluß der Oberwellen, desto größer werden die Unterschiede zwischen beiden Reizarten.

3. Phasen-Frequenzgänge

Mit der Frequenz des Reizlichtes änderte sich außer der Amplitude P auch der Phasenwinkel α (vgl. Abb. 25). Zur Messung des Phasenwinkels wurden Lissajous-Figuren erzeugt: Eine der Intensität des Reizlichtes proportionale Spannung wurde mit den horizontalen Platten eines Oszillographen, das Potential des untersuchten Auges mit den vertikalen Platten verbunden.

Die Lissajous-Figur für zwei sinusförmige Eingänge ist eine in bestimmten (vom Verhältnis der Amplituden beider Eingänge abhängigen) Winkel zur Horizontalen ausgerichtete Gerade. Tritt zwischen den Eingangssignalen ein Phasenwinkel auf, so wird die Gerade zur Ellipse. $\pm 90^0$ Phasenwinkel sind erreicht, wenn die Achsen der Ellipse vertikal oder horizontal liegen. Bei $\alpha = \pm 180^0$ entsteht wieder eine Gerade, die entgegengesetzt zur Geraden bei $\alpha = 0^0$ geneigt ist usw. Der Umlaufsinn ergibt das Vorzeichen. Sobald ein Eingangssignal nicht mehr sinusförmig ist, treten Abweichungen von der Form der Geraden bzw. Ellipse auf. Deshalb konnte mit diesem Verfahren beim ERG gleichzeitig geprüft werden, ob lineare Übertragung erfolgte.

Abb. 32 zeigt Lissajous-Figuren für den Fall $\Delta I/I = 15$, für den Fall also, daß lineare Übertragung erst für höhere Frequenzen erreicht wurde (vgl. Abb. 26). Licht-Intensität und ERG hatten in jeder Lissajous-Figur ihr Minimum links unten. Für 0,032 Hz zeigt die Lissajous-Figur, daß die Übertragung nichtlinear erfolgte. Außerdem kann man daran, daß die Lissajous-Figur nicht eine Linie ist, ablesen, daß die Reaktion leicht asymmetrisch war, daß der Abfall also nicht genau spiegelbildlich zum Anstieg verlief. Die Asymmetrie war bei 0,1 Hz verschwunden, nicht aber die Nichtlinearität (keine Gerade!). Ab 0,5 Hz begann die Verformung der Lissajous-Figur zur Ellipse, die Phasenschiebung setzte also ein. Die Reaktion war allerdings noch kein Sinus, sonst dürfte das Ende der Lissajous-Figur rechts oben nicht „spitz" sein. Praktisch lineare Übertragung war bei 3,7 Hz erreicht; der Phasenwinkel betrug dort -90^0. Bei 11,1 Hz war eine Gerade erreicht; deren Neigung ist entgegengesetzt zu der bei den geringen Reizfrequenzen: α ist hier also -180^0. Bei der Frequenz 20 Hz steht die Achse der Ellipse wieder senkrecht (dies ist wegen der geringen Amplitude des ERGs auf der Photographie nicht mehr zu erkennen): $\alpha = -270^0$.

Den Phasenwinkel als Funktion der Reizlicht-Frequenz zeigt Abb. 33. Die weißen Kreise sind Meßpunkte von Hylobius (von 2 Tieren), die Kreuze Meßpunkte von Chlorophanus (von 2 Tieren). Bis zu 0,5 Hz Reizlicht-Frequenz erfolgte keine Phasenschiebung. Ab 0,5 Hz trat ein negativer Phasenwinkel auf, d. h. die Reaktion blieb hinter dem Reiz zurück. Mit weiter wachsender Frequenz nahm der Phasenwinkel (über log. Frequenzskala aufgetragen) rasch zu, bei 20—30 Hz waren -270^0 erreicht. Von da ab war die Reaktion so klein, daß ein Phasenwinkel nicht mehr gemessen werden konnte (vgl. Abb. 28 bis 30). Die Messungen wurden für mehrere Werte von I_1 (von 0,1—10) und ΔI (von 0,15—15) in insgesamt 7 Kombinationen durchgeführt. Sämtliche Meßpunkte lagen auf derselben Kurve. Daraus ergibt sich, daß *der Phasenwinkel* α *eine Funktion nur der Reizlicht-Frequenz, daß er unabhängig von* I_1 *und* ΔI *war.* Ob die Unterschiede zwischen den Kurven von Chlorophanus und Hylobius „echt" waren oder nur zufällig, wurde nicht geprüft.

Abb. 32. Hylobius. Lissajous-Figuren zur Bestimmung des Phasenwinkels für verschiedene Reizlicht-Frequenzen. Es waren $\Delta I = 15$, $I_1 = 1$

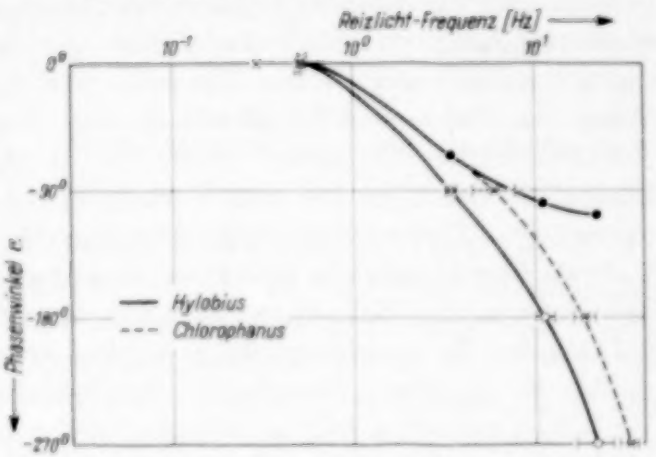


Abb. 33. Abhängigkeit des Phasenwinkels von der Frequenz des Reizlichts. ○ Mittelwerte von 6 Messungen an Hylobius (von 2 Tieren). × Mittelwerte von 2 Messungen an Chlorophanus (von 2 Tieren). Die vertikalen Striche bezeichnen die Extremwerte. ● Diese Punkte wurden errechnet, indem der 20 msec entsprechende Winkel als Totzeit vom insgesamt gemessenen Phasenwinkel abgezogen wurde

Das Auftreten eines Phasenwinkels zwischen Eingangs- und Ausgangs-Signal eines Systems kann zwei verschiedene Ursachen haben: eine Totzeit oder eine „echte Phasenschiebung". Eine Totzeit liegt vor, wenn nach Eintreffen eines Signals am Eingang eine Zeit verstreicht, bis am Ausgang irgendeine Meldung über das Eingangssignal erfolgt. Eine Totzeit muß für sämtliche Eingangsfrequenzen die gleiche sein. Daraus folgt, daß der gemessene

Phasenwinkel proportional zur Frequenz des Eingangs-Signals zunehmen muß. — Eine „echte Phasenschiebung" bedingt z. B. die Trägheit eines linearen Systems. In diesem Fall wächst der Phasenwinkel nicht proportional zur Reizlicht-Frequenz.

Ob die gemessenen Phasenwinkel die Folge einer reinen Totzeit sein können, wurde geprüft, indem die Meßpunkte der Abb. 33 über einer linearen Frequenzskala aufgetragen wurden. Dabei ergab sich, daß der gemessene Phasenwinkel *nicht* proportional zur Reizlicht-Frequenz zunahm, sondern zunächst mehr, dann weniger. Die Phasenschiebung war also nicht die Folge einer reinen Totzeit.

Liegt eine Totzeit vor, so kann man sie mit Hilfe eines Stufenreizes bestimmen. Sie ist gleich der Latenzzeit L der Abb. 3b. Die Latenzzeit wurde bei Hylobius zu ≈ 20 msec gemessen. Der Phasenwinkel, der durch diese Totzeit von 20 msec verursacht werden müßte, wurde auf Abb. 33 für die einzelnen Meßpunkte von dem insgesamt gemessenen Phasenwinkel abgezogen. Was übrig blieb, wäre der Phasen-Frequenzgang ohne Totzeit-Einfluß (Abb. 33, schwarze Punkte). — Allerdings ist nicht auszuschließen, daß sich die Latenzzeit mit der Frequenz (ähnlich wie mit der Höhe eines Rechteckimpulses) ändert. In diesem Fall dürfte nicht von jedem Meßpunkt der gleiche Totzeiteinfluß von 20 msec abgezogen werden. Diese Kurve hat somit hypothetischen Charakter.

E. Abhängigkeit der Reaktion vom Verhältnis ΔI zu I

In Kapitel B wurde sowohl für Hell- als auch für Dunkelimpulse gezeigt, daß die Empfindlichkeit des Auges um so größer war, einer je kleineren Adaptationslicht-Intensität das Auge vor der Reizung ausgesetzt worden war. Diese Tatsache gibt Anlaß zur Frage, in welcher Weise die Größe der Amplitude H vom Verhältnis der Reizgröße zur Adaptationslicht-Intensität (von $\Delta I/Ia$) abhängt. Eine direkte Abhängigkeit der Reaktion vom Verhältnis ΔI zu Ia würde für die optomotorische Wirksamkeit eines Streifenzylinders (und einer beliebigen Umwelt überhaupt, wie weiter unten diskutiert werden wird) bedeuten, daß sie von der Beleuchtungsstärke unabhängig wäre. Bei einer Erhöhung der Beleuchtungsstärke werden nämlich sowohl helle als auch dunkle Stellen eines Streifenzylinders um denselben Faktor heller; das *Verhältnis* zwischen hell und dunkel bleibt somit in diesem Fall gleich.

In diesem Abschnitt soll zunächst untersucht werden, inwieweit die Reaktionen vom Verhältnis ΔI zu Ia abhängen. Dann soll diskutiert werden, welche Eigenschaften der Sinneselemente die gefundenen Zusammenhänge verursachen könnten.

Abb. 34 zeigt die Meßwerte von Abb. 14, diesmal jedoch so dargestellt, daß diejenigen für gleiches $\Delta I/Ia$ übereinander liegen: Auf der Abszisse sind nicht die Absolutwerte von ΔI, vielmehr die Werte von $\Delta I/Ia$ aufgetragen. Die 3 Kurven stimmen im Verlauf fast überein.

Auf Vergrößerung von ΔI und Ia um den Faktor 100 nahm die Reaktion nicht einmal um den Faktor 2 zu. Völlige Übereinstimmung der Kurven würde dem Gesetz von WEBER (1846) entsprechen. Dieses besagt, daß der eben merkliche Reizzuwachs ΔS in konstantem Verhältnis zum Grundreiz S stehen muß, um eben die Schwellenreaktion (also eine konstante Reaktion) hervorzurufen. Allerdings beziehen sich die Messungen der Abb. 34 auf konstante Reaktionen überhaupt, nicht nur auf die Schwellenreaktionen.

Die Tatsache, daß die Reaktion konstant bleibt, sofern $\Delta I/Ia$ konstant gehalten wird, ergibt sich daraus, daß der Zusammenhang zwischen der Lichtintensität und dem von den Sinneselementen erzeugten Potential angenähert logarithmisch ist. — Dies soll mit Hilfe von Abb. 35 erläutert werden. Abb. 35 zeigt den Zusammenhang zwischen Reiz und ERG-Amplitude, wie er schon in Abb. 14 und 15 dargestellt wurde, diesmal für den Fall $\Delta t \approx 15$ sec. Aus Gründen, die weiter unten besprochen werden, ist diesmal auf der Abszisse die *gesamte* während des Reizes das Auge treffende Lichtintensität aufgetragen. Sie setzt sich additiv aus Ia und ΔI zusammen. In der Kurve (△) ist $Ia = 0$. Die Abszisse gibt also direkt die Werte für ΔI an. — In der Einschaltfigur wurden dieselben Meßpunkte über logarithmischer Abszisse aufgetragen, um den angenähert logarithmischen Verlauf zu zeigen. — Wird das Auge mit einer Lichtstufe der Höhe ΔI_I gereizt, so erzeugen die Sinneselemente ein Potential, dessen Größe der Kurve (△) entnommen werden kann. Wird das Licht nicht wieder abgeschaltet, so ist es nach unserer Bezeichnungsweise (Kap. B, 1) ein neues Adaptationslicht der Intensität Ia_I. Dabei besteht noch immer das Potential, das das Auge auf den Reiz der Größe ΔI_I produziert hatte, wenn man zunächst vom teilweisen Absinken auf Grund des „Überschwingens" (vgl. Abb. 4) absieht. Superponiert man dem Adaptationslicht der Intensität Ia_I erneut eine Lichtstufe der Höhe ΔI_I, so führt diese nicht mehr zu einer so großen Potentialänderung ΔU, wie die auf das dunkle Auge gegebene.

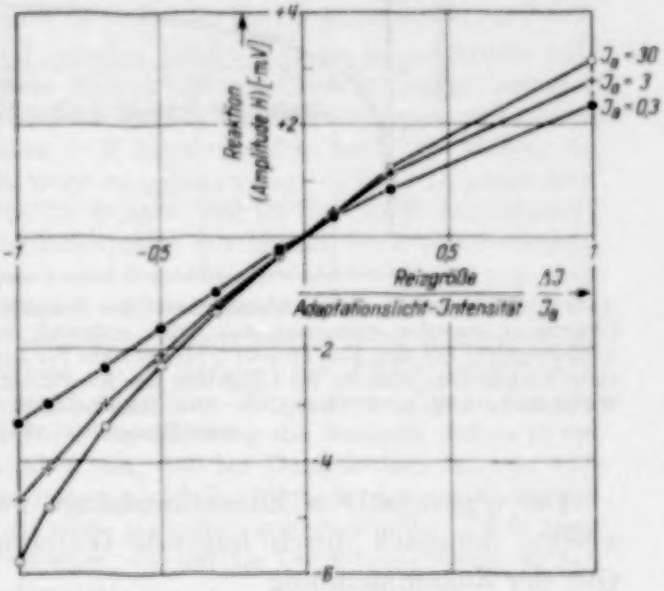


Abb. 34. Hylobius. Die Amplitude von ERGs in Abhängigkeit vom Verhältnis $\Delta I/Ia$. (Meßpunkte von Abb. 14)

Der „Nullpunkt" wurde nämlich durch das Adaptationslicht auf der logarithmischen Kurve von Abb. 35 (△) nach oben verrückt. Somit muß das Auge für erneute Lichtänderungen unempfindlicher geworden sein, was die Messungen bestätigten.

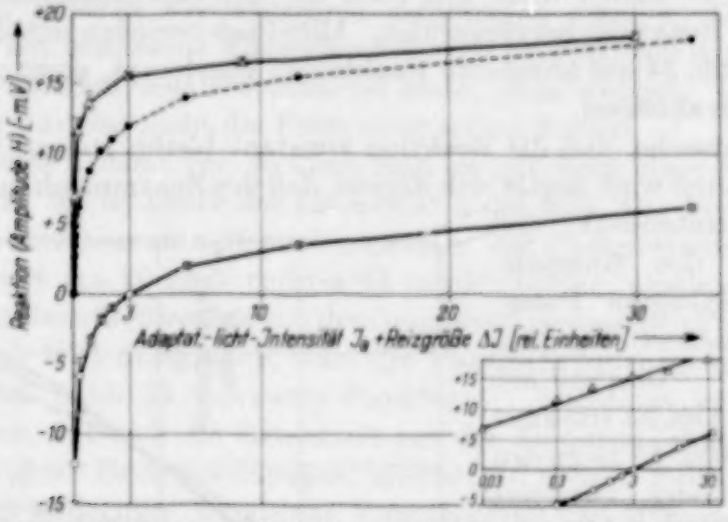


Abb. 35. Hyiobius. Die Abhängigkeit der Amplitude von ERGs auf rechteckförmige Lichtreize von der gesamten, das Auge während des Reizes treffenden Lichtintensität. △ Meßpunkte für den Fall $Ia = 0$; ○ Meßpunkte für den Fall $Ia = 3$; ● die Kurve ○ so nach oben verschoben, daß sie im Ursprung des Koordinatensystems beginnt; Δt war ≈15 sec. Mittelwerte von je 4 Tieren. — Die Einschaltfigur enthält dieselben Meßpunkte über logarithmischer Abszisse

Die quantitativen Zusammenhänge zwischen U, ΔU, Ia und ΔI werden demnach durch folgende Gleichungen angenähert dargestellt: Gilt der Zusammenhang

$$U \sim \log I \tag{1}$$

so kann formal angesetzt werden:

$$dU \sim \frac{dI}{I}. \tag{2a}$$

Da ΔI und ΔU nicht den Charakter von Differentialen, sondern den von Differenzen tragen, kann aus Gleichung 2a nach Setzung von Ia für I nicht die Proportionalität gefolgert werden, sondern lediglich:

$$\Delta U = \text{konst. für } \frac{\Delta I}{Ia} = \text{konst.} \tag{2b}$$

Der Zusammenhang zwischen der Adaptationslicht-Intensität Ia und dem durch sie erzeugten Potential Ua ist im untersuchten Bereich angenähert logarithmisch (Abb. 35, Einschaltfigur). Das würde nach Gliederung 2b fordern, daß die Reaktion für verschiedene Reizbedingungen, aber konstantes $\Delta I/Ia$ konstant bleibt. Bei allen Versuchen (Abb. 34) trat jedoch eine *systematische* Abweichung auf. Es soll genauer untersucht werden, wie diese zustande kam. In Abb. 35 sind Versuche dargestellt, die die Gleichungen 1 und 2b prüfen: Auf der Abszisse wurde die gesamte, während des Reizes auf das Auge treffende Lichtintensität Is, die sich aus

der Adaptationslicht-Intensität Ia und der Reizgröße ΔI zusammensetzt, aufgetragen. Die Kreise sind die Meßpunkte für mit der Adaptationslicht-Intensität $Ia = 3$ belichtete Augen, die mit sehr langen (≈ 15 sec) Hell- und Dunkelimpulsen gereizt worden waren. Die dreieckigen Meßpunkte ergaben sich, nachdem völlig dunkeladaptierte Augen verschieden stark belichtet worden waren. Bei strenger Gültigkeit der obigen Formeln müßten beide Kurven durch Verschieben in Ordinatenrichtung ineinander übergeführt werden können. Um beide Kurven vergleichen zu können, wurde die untere Kurve so lange nach oben geschoben, bis ihr tiefster Punkt im Nullpunkt der Ordinate lag (gestrichelte Kurve). Beide Kurven decken sich nicht. Die nach oben verschobene Kurve verläuft insgesamt *unter* der anderen. Zwar sind beide angenähert logarithmische Kurven, doch verläuft die nach oben verschobene Kurve über logarithmischer Abszisse etwas steiler (Abb. 35, Einschaltfigur). Da die Überführung beider Kurven ineinander nicht völlig gelingt, gelten die in Gleichung 2b formulierten Beziehungen nur angenähert.

Der Grund für diesen Unterschied zwischen beiden Kurven ist zumindest teilweise darin zu suchen, daß auf größere Hellstufen ein „Überschwingen" auftrat. Das führt dazu, daß beim Reizen eines an ein Ia_I adaptierten Auges mit einem Reiz der Größe $-\Delta I_I$ eine Reaktion $-H$ hervorgerufen wird, die kleiner ist als die Reaktion $+H$, die man erhält, wenn man das an $Ia_I - \Delta I = Ia_{II}$ adaptierte Auge mit $+\Delta I_I$ reizt (vgl. Abb. 9b: im rechten Teil ist die [nicht bezeichnete] Reaktion $+H$ auf das Ende des Dunkelimpulses auf Grund des Überschwingens größer als $-H$). In den Gleichungen 1 und 2 steckt aber als Voraussetzung, daß diese Reaktionen gleich sind. — Die Kurven müßten, wäre nur das „Überschwingen" für den Unterschied verantwortlich, ineinander übergeführt werden können, wenn in der Kurve $Ia = 0$ statt der Maxima die „Plateaus" der ERGs ausgemessen würden. Dies wurde experimentell nicht geprüft. — Ein weiterer Grund für den Unterschied könnte darin liegen, daß bei der Reizung die Reizzeit auf ≈ 15 sec beschränkt worden war. Es könnte aber sein, daß bei Dunkelreizen bei sehr viel längeren Reizzeiten noch ein weiterer Potentialabfall erfolgt, der aus methodischen Gründen (vgl. Kap. B, 3) jedoch nicht mehr gemessen werden könnte. Träfe diese Annahme zu, so ließe sich auch verstehen, warum die Dunkeladaptation in bestimmten Versuchen bis zu 960 sec benötigte.

Im folgenden Abschnitt wird gezeigt werden, daß entsprechende Überlegungen auch auf die Versuche mit Sinuslicht bei konstantem Verhältnis von ΔI zu I_1 angewendet werden können, d.h. daß sich auch dann die *geringe* Zunahme der Reaktion trotz *starker* Zunahme von ΔI und I_1 aus dem logarithmischen Reiz-Reaktions-Zusammenhang ergibt.

Die Versuche, die in Abb. 15 dargestellt sind, zeigten, daß mit fortschreitender Verkürzung der Reizzeit der logarithmische Zusammenhang mehr und mehr linearisiert wurde. Daraus folgt, daß die Lichtintensitäten nicht momentan in die entsprechenden Potentiale übersetzt wurden, daß vielmehr die Geschwindigkeit, mit der sich auf einen Reiz hin das jeweilige Potential einstellte, Einfluß auf die Amplitude hatte. Die kinetischen Eigenschaften der das ERG erzeugenden Strukturen bestimmten die Reaktion mit. Das kinetische Verhalten kann aus den Abb. 10, 15 und 16 abgelesen werden: Das Potential stellte sich bei Dunkelreizen mit einer *so großen Trägheit* ein, daß für kürzer

werdende Reizzeiten kleinere Reaktionen erreicht wurden. — Somit vermochte die spezifische Trägheit, mit der die Augen auf Hell- und Dunkelreize unterschiedlich reagierten, den logarithmischen Reiz-Reaktionszusammenhang für kleine bzw. kurze Reize zu linearisieren.

F. Zusammenhänge zwischen den Reaktionen auf stufen- und sinusförmige Helligkeitsänderungen

Im Kapitel B wurden die Reaktionen auf rechteckförmige Lichtreize, im Kapitel D die auf Sinuslicht beschrieben. Wie die Ergebnisse beider Kapitel in Zusammenhang gebracht werden können, soll im folgenden besprochen werden.

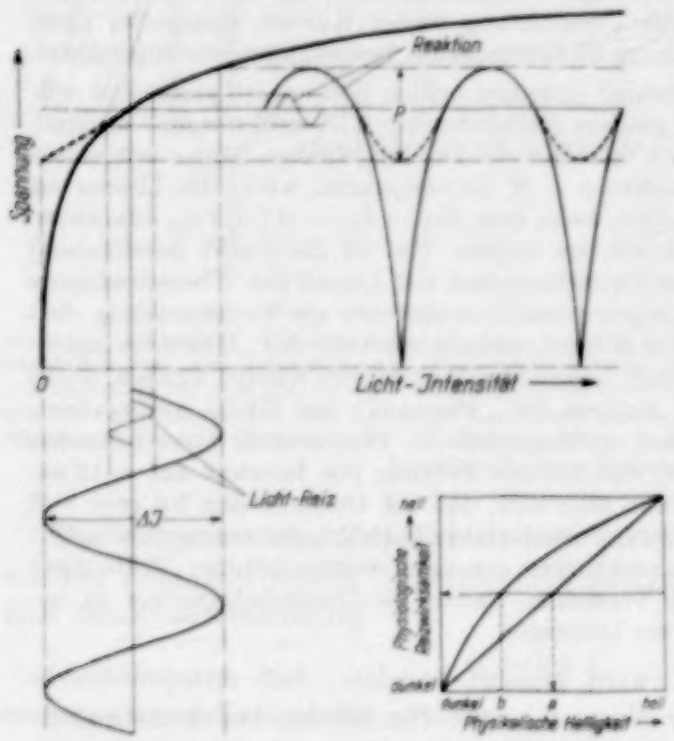


Abb. 36. Kennlinienkonstruktion. Sinusförmige Lichtreize wurden an der Kennlinie „gespiegelt". Die Lichtintensität wird je nach den Reizbedingungen linear oder nichtlinear in Spannung übersetzt. Erläuterung im Text. Einschaltfigur: Erläuterung im Text

Die in Abb. 35 abgebildete Kurve für $Ia = 3$ gibt die Potentiale wieder, die sich bei verschiedenen Lichtintensitäten einstellten, wenn man die Lichtreize genügend lang ($\Delta t =$ 10—15 sec) machte. Bietet man dem Auge sehr niederfrequentes Sinuslicht, so muß man diese Kurve (in dem Bereich, in dem das Überschwingen noch keine Rolle spielt, vgl. Kapitel B), als *Kennlinie*[1] auffassen können. Wie die Antwort auf sinusförmiges Licht aussieht, wenn man die Reiz-Reaktionskurven als Kennlinie auffaßt, zeigt Abb. 36, in der eine Kennlinien-Konstruktion durchgeführt wurde. Die dick ausgezogene Kurve stellt einen Teil der Kurve (o) aus Abb. 35 dar, sie ist die Kennlinie. Auf der nach unten verlängerten Ordinate ist der Zeitverlauf des sinusförmigen Reizlichtes ($I_1 = 0$) aufgezeichnet. Über „Spiegelung" an der Kennlinie entsteht entlang der

[1] Eine *Kennlinie* liegt dann vor, wenn die Geschwindigkeit, mit der sich das Ausgangssignal einstellt, sehr groß ist gegenüber der Geschwindigkeit, mit der sich das Eingangssignal ändert. Im Fall des Auges von Hylobius kann man also Kennlinienverhalten erwarten, wenn man die Änderungsgeschwindigkeit der Eingangssignale sehr klein macht.

Abszisse die zu erwartende Reaktion (ausgezogen): Sie hat in der Tat die Form der in Abb. 26 und 27 für große Reizgrößen und niedere Frequenzen erhaltenen Oszillogramme. Da die Kennlinie von der Form

$$U \sim \log I \tag{3}$$

ist, gehorcht der daran gespiegelte Sinus der Gleichung

$$U \sim \log \sin I \tag{4}$$

Für den Fall tiefer Frequenzen und großer Amplituden gibt also die Kennlinien-Darstellung die gemessenen Verhältnisse richtig wieder. Mit Hilfe der Kennlinien-Darstellung sollen zwei weitere Fragen beantwortet und die Antworten mit Versuchsdaten verglichen werden.

1. Wie sieht die Reaktion aus für den Fall, daß bei tiefen Frequenzen das Verhältnis $\Delta I/I_1$ kleiner gewählt wird? In diesem Fall liefert das Experiment ein sinusförmiges ERG. Die Kennlinienkonstruktion in Abb. 36 zeigt (punktiert): Die Lichtintensitäten werden linear in Potentiale übersetzt. Der *kleine Ausschnitt* aus der logarithmischen Kennlinie wirkt sich wie eine Gerade aus.

2. Wie ändert sich die Reaktion für den Fall, daß zwar das Verhältnis von $\Delta I/I_1$ groß, wie im zuerst besprochenen Beispiel, die Reizlicht-Frequenz aber hoch ist? Für diesen Fall darf die in Abb. 36 ausgezogene Kennlinie *nicht* beibehalten werden. Denkt man sich nämlich das Sinuslicht in einzelne Impulse entsprechender Höhe zerlegt, so müssen diese Impulse, um den Verlauf des Sinuslichts genügend genau abbilden zu können, wesentlich kürzer sein als für den zu Anfang besprochenen Fall tiefer Reizlicht-Frequenzen. Das bedeutet, daß als „Kennlinie" die Kurve verwendet werden muß, wie man sie bei Reizung mit Lichtimpulsen *kurzer* Reizdauer mißt. In diesem Fall wird der Kurvenast für Dunkelreize „geradegebogen" (Abb. 15). Oder in anderen Worten: Die Lichtintensität ändert sich bei hohen Reizlicht-Frequenzen so schnell, daß der der jeweiligen Intensität des Sinuslichts entsprechende, endgültige Potentialwert keine Zeit hat, sich einzustellen. Die Kennlinien-Konstruktion unter Berücksichtigung dieses Gesichtspunktes ist in Abb. 36 (gestrichelt) durchgeführt. Man findet die Reaktion durch zwei Merkmale gekennzeichnet:

a) Die Amplitude ist verkleinert.

b) Die Reaktion ist *linearisiert*. Sie ist nicht mehr $U \sim \log \sin I$, sondern $U \sim \sin I$ (gestrichelter Teil der Reaktion). Beides entspricht den Meßergebnissen (vgl. Abb. 26, 27 in bezug auf die Form, Abb. 30 in bezug auf die quantitativen Verhältnisse).

Die Ergebnisse der Kapitel E und F lassen sich daher wie folgt zusammenfassen:

1. Die Reaktion ist auf Grund kinetischer Eigenschaften der das ERG erzeugenden Strukturen bei hohen Frequenzen und kleinen Reizgrößen *linear* vom Reiz abhängig.

2. Für kleinere Reizlicht-Frequenzen wirken sich die linearisierenden Eigenschaften im ERG nicht mehr aus: Die Reize werden nach einem logarithmischen Zusammenhang in Potentiale übersetzt. Dieser logarithmische Zusammenhang hat zur Konsequenz, daß die Reaktion hauptsächlich vom Verhältnis ΔI zu Ia bzw. ΔI zu I_1 abhängig wird.

G. Vergleich mit Ergebnissen verhaltensphysiologischer Experimente

Die Verhaltensexperimente an Chlorophanus (HASSENSTEIN 1959) waren aus experimentellen Gründen bei geringen Helligkeiten durchgeführt worden: Mit einem Luxmeter gemessen entsprach die Helligkeit der hellsten verwendeten Streifen von Streifenzylindern 0,03 rel. Einheiten. (Diese Zahl gibt nur die Größenordnung an, da die Farbtemperaturen der jeweiligen Lampen nicht übereinstimmten.) Die in den Verhaltensversuchen gebotenen größten Helligkeiten lagen somit bei den niedrigsten der im elektrophysiologischen Experiment verwandten. Die Ergebnisse können trotzdem verglichen werden, weil bei allen elektrophysiologischen Messungen, in denen von hohen zu tiefen Intensitäten bei sonst gleichen Reizbedingungen übergegangen wurde, weder eine Formänderung der Reaktion (vgl. z. B. die rechten Kolonnen von Abb. 26 und 27: $\Delta I/I_1 = \text{konst.}$, Absolutintensität auf 1/10 reduziert) noch eine Änderung der Form der Reaktionskurven auftrat (Abb. 29 und 34: Absolutintensität bis auf 1/100 reduziert).

1. Zur Frage der linearen und nichtlinearen Helligkeitsübersetzung

Die optomotorischen Versuche an Chlorophanus hatten zu dem Schluß geführt, daß bei Reizzeiten von 30—200 msec Helligkeitswerte vom Auge linear, bei Reizzeiten von 200 msec bis 6 sec mehr und mehr nichtlinear in physiologische Helligkeitsmeldungen übersetzt werden.

Bei den diesbezüglichen Versuchen HASSENSTEINS (1959) waren schmale Graustreifen in großem zeitlichem Abstand vor den auf einen schwarzen oder weißen Hintergrund blickenden Ommatidien vorbeibewegt worden. Dabei hatten die Augen Lichtreize bekommen, die den rechteckförmigen Lichtreizen von Kapitel B entsprechen. Die eben angegebenen Reizzeiten der optomotorischen Experimente wurden aus der Streifenbreite und der Winkelgeschwindigkeit, mit der die Streifen bewegt worden waren, errechnet.

Hierzu hat die vorliegende Arbeit folgendes Ergebnis beigetragen: Die Reizlicht-Intensitäten werden bei denselben Reizzeiten *schon im ERG* linear bzw. nichtlinear beantwortet (Kap. B, Abb. 15b).

Das Verhältnis „dunkel zu hell" war bei den Streifenzylindern im Extremfall 1:25. Würde dieses Verhältnis dem $\Delta I/Ia$ entsprechen, so wäre der im elektrophysiologischen Experiment bestimmte lineare Bereich für die *Hellreize* weit überschritten, es würde in dieser Hinsicht also keine Übereinstimmung bestehen.

Welches Verhältnis $\Delta I/Ia$ bei den optomotorischen Versuchen im Ommatidium *wirksam* wird, läßt sich allerdings nicht angeben, so daß in dieser Hinsicht kein

Vergleich durchgeführt werden kann. Es kann nur die Tatsache erwähnt werden, daß die Käfer im optomotorischen Experiment mit der gesamten Versuchsanordnung von oben direkt beleuchtet worden waren, so daß auch Streulicht in die Ommatidien gelangen konnte, was auf das in den Ommatidien *wirksam* werdende *ΔI/Ia* verkleinernd wirken mußte. Ebenso mußte der in den betreffenden optomotorischen Versuchen zum Teil verwendete Rasterzylinder das *wirksame ΔI/Ia* verkleinern.

Eine nichtlineare Übertragung wirkte sich im optomotorischen Experiment so aus, daß als mittleres Grau nicht mehr das physikalische mittlere Grau bewertet wurde, sondern ein zu dunkleren physikalischen Grauwerten verschobenes. Die im elektrophysiologischen Experiment gemessene Verzerrung ist gleichbedeutend mit der Verschiebung des physiologischen mittleren Graus zu dunkleren physikalischen Grauwerten.

Dies zeigt die Einschaltfigur Abb. 36 anschaulich: Auf der Abszisse ist die physikalische Helligkeit linear aufgetragen, auf der Ordinate die physiologische Reizwirksamkeit. Die Diagonale gibt eine lineare Abhängigkeit an. Bei ihr entspricht die mittlere physiologische der mittleren physikalischen Helligkeit (kleine Pfeile). Außer dem linearen Zusammenhang wurde ein Ausschnitt aus der Kurve (o) von Abb. 35 eingezeichnet, die einen logarithmischen Zusammenhang wiedergibt. Liest man an dieser Kurve ab, welche physikalische der mittleren physiologischen Helligkeit oder Reizwirksamkeit entspricht, so sieht man, daß dies nicht mehr die mittlere physikalische (a), sondern eine zu dunkleren Werten verschobene ist (b).

Als dynamische, nichtlinear verzerrende Prozesse waren bisher nur Adaptationsvorgänge bekannt. Daher hatte Hassenstein (1959) auch die Ursache für die im optomotorischen Experiment nachgewiesene nichtlineare Verzerrung in einem Adaptationsvorgang vermutet: Wenn der Adaptationszustand den Helligkeitsänderungen (auf Grund der langsamen Helligkeitswechsel) teilweise folgen könnte, so würden Hellreize stärker als Dunkelreize geschwächt werden, da eine Adaptation von hell nach dunkel langsamer als eine solche von dunkel nach hell erfolgt. Dies hätte eine Verschiebung des mittleren physiologischen Graus zur Folge haben müssen. — Falls die sich im ERG ausdrückenden Vorgänge für die Verzerrung verantwortlich sind, ist jedoch folgende Deutung richtig: Es ist die *Grundeigenschaft* der Sinneselemente, Lichtintensitäten auf nichtlineare Weise in Erregung zu übersetzen. Das *lineare* Verhalten wird *sekundär* auf Grund der *kinetischen* Eigenschaften der Sinneselemente hervorgebracht.

2. Das ERG als Maß für die physiologische Reizwirksamkeit

Die gefundene Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der elektrophysiologischen Experimente und den Aussagen der Verhaltensversuche war an sich nicht zu erwarten gewesen. Einmal, weil die Voraussetzung für die Übereinstimmung wäre, daß die an das ZNS weitergeleiteten Helligkeitsmeldungen proportional zur Größe der ERGs sind. Dies trifft bei Limulus tatsächlich zu: Die Impulsfrequenz im optischen Nerv ist proportional zur Amplitude des ERGs (Macnichol 1956, Fuortes 1958). — Zum anderen, weil in der vorliegenden Arbeit die Reaktionen vieler Ommatidien gemessen wurden. Die Reaktionen vieler

Ommatidien sind nur dann ein Maß für die Reaktion des Einzelommatidiums, wenn 1. alle Ommatidien das gleiche Zeitverhalten zeigen, 2. die Ommatidien unabhängig voneinander reagieren, und 3. die Reaktionen vieler Ommatidien von der Elektrode einfach „elektrisch addiert" werden, wobei die Einzelreaktionen, je nach Lage des Ommatidiums zu Elektrode bzw. Reizlicht mit einem Faktor multipliziert in die Summe eingehen müßten. Es gibt mehrere Hinweise dafür, daß diese 3 Bedingungen bei den vorliegenden Untersuchungen erfüllt waren.

Dafür, daß alle Ommatidien gleich reagierten, spricht der Befund, daß die Form der ERGs unabhängig von der Orientierung der Augen zu Strahlengang und Elektrode war. Die Wechselwirkungen, die bei Limulus zwischen einzelnen Ommatidien der Komplexaugen gefunden wurden (RATLIFF, MILLER, HARTLINE 1958), sind im ERG noch nicht nachzuweisen, sondern erst im Sehnerv. Für die elektrische Addition sprechen logarithmische Kurven, die man erhält, wenn man die Amplitude von ERGs in Abhängigkeit von der gereizten Fläche eines Auges registriert (AUTRUM 1950): solche (logarithmische) Kurvenverläufe lassen sich unter der Voraussetzung elektrischer Addition berechnen.

3. Beziehungen zur „Funktionsstruktur"

Der Zusammenhang zwischen Reiz und Reaktion, den die optomotorischen Experimente aufzeigten, ermöglichte die Konstruktion einer *Funktionsstruktur* (HASSENSTEIN und REICHARDT 1953, REICHARDT und VARJU 1959), mit deren Hilfe die Reaktionen der Tiere auf beliebige Bewegungsreize berechnet werden können (Abb. 37a).

Bewegt sich eine Helligkeitskontur vor den Eingangselementen A und B von links nach rechts, so bekommt B zur Zeit $t+\Delta t$ die gleiche Meldung wie A zur Zeit t. Die Meldungen gelangen in die Elemente („Filter", „Instanzen") D, die auf Helligkeitsänderungen reagieren. Hinter D zweigt sich die Leitung auf: im geraden Zweig gelangen die Signale über ein träges Filter F mit großer Zeitkonstante zum Multiplikator M des einen Zweiges, im abzweigenden Ast über die trägen Instanzen H mit kleiner Zeitkonstante zum Multiplikator des anderen Zweiges. Hinter jedem Multiplikator wird in einem trägen Filter S mit sehr großer Zeitkonstante gemittelt, dann wird im letzten Filter Z die Differenz zwischen den Meldungen beider Zweige gebildet. Proportional zur Differenz ist die optomotorische Wendetendenz.

Die Frage war: Decken sich die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Eigenschaften des Auges mit den für eines der Filter (oder für eine Filterkombination) geforderten Übertragungseigenschaften?

Die untersuchten Augen reagierten elektrophysiologisch wie ein träges Filter: hohe Frequenzen wurden beschnitten, tiefe mit großer Amplitude übertragen[1]. Filter dieses Typs (vor den Multiplikationsinstanzen) sind die Filter F und H. Deren auf Grund der Theorie zu den optomotorischen Experimenten berechnete Übertragungseigenschaften sind in Abb. 38 als Amplituden- und Phasenfrequenzgang dargestellt.

[1] Da die Funktionsstruktur für den linearen Fall aufgestellt wurde, wird mit den Ergebnissen des linearen Bereichs verglichen.

Die schraffierten Flächen geben den aus den angegebenen Fehlern bestimmten, zugelassenen Bereich an. (Die Berechnung der Kurven erfolgte nach den von REICHARDT und VARJÚ 1959 angegebenen Gleichungen 33, 34 und 35.) Die eingezeichneten Kreise sind die Meßpunkte der elektrophysiologischen Versuche (aus Abb. 29: $\Delta I/I_1 = 15/10$, Abb. 33: Meß-

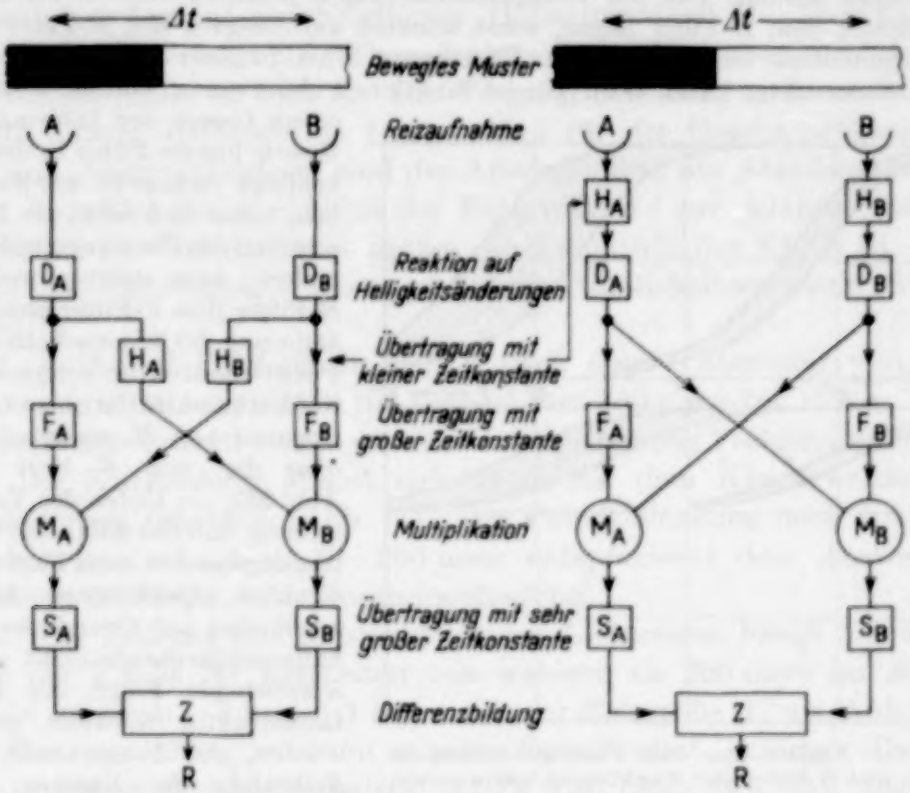


Abb. 37. a Funktionsstruktur der Bewegungsperzeption von Chlorophanus, nach REICHARDT und VARJU (1959). Die Übertragungsfunktionen der einzelnen Filter enthält die zitierte Arbeit. b Die auf Grund der elektrophysiologischen Experimente näher bestimmte Funktionsstruktur

punkte von Hylobius). Die elektrophysiologisch gemessenen Amplituden-Werte decken sich also mit dem aus Verhaltensversuchen erschlossenen Amplituden-Frequenzgang des *H*-Filters. Die elektrophysiologisch gemessene Phasenschiebung hingegen setzt zwar bei gleichen Frequenzen (0,5 Hz) ein wie die für das *H*-Filter berechnete, erreicht aber bei höheren Frequenzen viel größere Werte. Dies trifft auch für die Phasenwinkel zu, von denen der Einfluß der Latenzzeit von 20 msec abgezogen worden war (schwarze Punkte in Abb. 38).

Der Amplitudengang des *H*-Filters auf Grund der Verhaltensversuche ist eindeutig festgelegt, der Phasengang hingegen ist der minimale Phasengang, den das *H*-Filter besitzen muß[1]; größere Phasenwinkel wären im Verhaltensexperiment

[1] Er ergibt sich aus der von BODE (1945) für lineare Filter angegebenen Bedingung.

nicht erkennbar und konnten deshalb nicht ausgeschlossen werden. Es spricht somit nichts gegen die Annahme, daß im elektrophysiologischen Experiment Eigenschaften des *H*-Filters der Funktionsstruktur gemessen wurden.

Die aus den Verhaltensversuchen gefolgerte Funktionsstruktur muß aber, um mit diesem Ergebnis in Einklang gebracht werden zu können, anders als in Abb. 37a gezeichnet werden: Das nur Helligkeits*änderungen* beantwortende *D*-Filter darf erst hinter dem *H*-Filter liegen, sonst könnten am Ausgang der *H*-Filter keine Gleichpotentiale auftreten. Diese Überlegung führt zu einer näher bestimmten Funktionsstruktur (Abb. 37b). Sie ist funktionell gleichwertig, einmal, weil nach einem Gesetz der Informationstheorie lineare Filter in der Reihenfolge vertauscht werden können, ohne daß sich die Eigenschaften des Übertragungskanals ändern; zum anderen, weil das *H*-Filter dem *F*-Filter ohne Veränderung der Eigenschaften der Funktionsstruktur vorgeschaltet werden kann, da die obere Grenzfrequenz von *H* genügend weit über der von *F* liegt (vgl. Abb. 38). — Unter der Voraussetzung, daß das ERG eine Übertragungsinstanz in der Funktionsstruktur repräsentiert, konnte somit eine auf Grund der Verhaltensexperimente nicht zu beantwortende Frage der Funktionsstruktur teilweise geklärt werden, die Frage nach der *Reihenfolge der linearen Filter* zwischen der Reizaufnahme und den Multiplikationsinstanzen. — Das monophasische ERG wird, wie man vermutet, von den Lichtsinneszellen erzeugt. Somit läßt sich die anatomische Lage des *H*-Filters mit großer Wahrscheinlichkeit angeben: Es liegt im Auge bzw. den Sinneszellen.

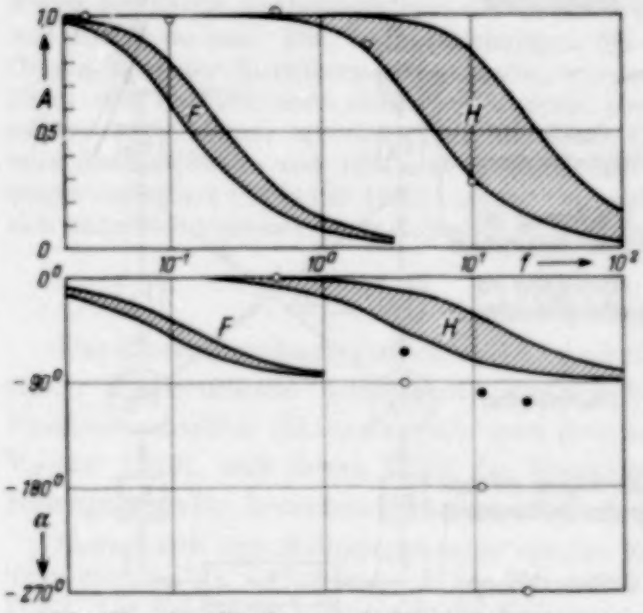


Abb. 38. Amplituden- und Phasenfrequenzgang der *F*- und *H*-Filter der Funktionsstruktur, sowie die entsprechenden Meßpunkte aus den elektrophysiologischen Messungen

Die bisher ausschließlich topo*logisch* zu verstehende Funktionsstruktur (Abb. 37a) konnte somit in einem Punkt mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit (was die Lage der *H*-Filter betrifft) ins topo*graphische* übersetzt werden.

Herrn Prof. Dr. B. HASSENSTEIN danke ich für die Anregung, ihm und Herrn Dr. W. REICHARDT für Förderung der Arbeit. Herrn Dipl.-Phys. H. WENKING bin ich für den Bau des physiologischen Verstärkers sowie für Hilfe in meßtechnischen Fragen zu Dank verpflichtet. Des weiteren danke ich Herrn Revierförster BERGER für das Besorgen der Versuchstiere, Herrn Dr. P. KUNZE und Herrn R. ENGELHARDT für kritische Durchsicht des Manuskripts, Herrn Feinmechanikermeister H. BRAUN für den Bau des Sinuslichtgenerators, Frau A. MUNZ und Fräulein U. SCHÖNFELD für technische Hilfe sowie Herrn FREIBERG für die Fertigstellung der Abbildungen.

Zusammenfassung

1. Das Elektroretinogramm der untersuchten Rüsselkäfer auf einen Hellreiz hat die von Limulus, Dixippus und anderen Arthropoden bekannte Form eines langsamen, monophasischen ERGs: Nach einer Latenzzeit von etwa 20 msec erfolgt innerhalb von 10—200 msec ein Potentialanstieg auf gleichbleibende Höhe (maximal 10—20 mV). Bei starken Reizen erfolgt ein „Überschwingen" vor Erreichen des konstanten Wertes (Abb. 4a und b). Der Vorgang des Abklingens nach Reizschluß dauert 100 msec bis 15 sec. Maß für die Geschwindigkeit der An- und Abklingvorgänge sind die Anstiegs- und die Abfallshalbwertszeit: Je größer das Verhältnis der Reizgröße ΔI zur Adaptationslicht-Intensität Ia, und damit, je größer die Amplitude der ERGs ist, desto kleiner ist die Anstiegs-, desto größer die Abfallshalbwertszeit (Abb. 5, 6 und 7).

2. Auch auf Dunkelreize erfolgt nach einer Latenzzeit von etwa 20 msec ein Potentialabfall im Verlauf von 100 msec bis 15 sec. Auch dessen Halbwertszeit ist um so kleiner, je kleiner das Verhältnis $-\Delta I/Ia$ ist. Die Kurvenform ändert sich dabei mit dem Kleinerwerden des Dunkelreizes erheblich (Abb. 11). Der Potentialanstieg nach Ende des Dunkelreizes erfolgt in 10—200 msec entsprechend dem Anstieg auf Hellreize (s. Punkt 1 der Zusammenfassung).

3. Bei Reizung mit rechteckförmigen Lichtreizen hängt die Amplitude der ERGs für Reizzeiten von weniger als 200 msec im Bereich $\Delta I/Ia$ zwischen -1 und $+1$ *linear* von der Reizgröße ΔI ab (Abb. 15b). Der Zusammenhang wird um so mehr *logarithmisch*, je länger die Reizzeit und je größer das Verhältnis $\Delta I/Ia$ wird (Abb. 15a, 35). Dies liegt nicht nur daran, daß ein kleiner Ausschnitt aus einem nichtlinearen Zusammenhang durch eine Gerade angenähert werden kann, sondern auch an der besonderen Kinetik, mit der sich das Potential auf Dunkelreize einstellt (vgl. Punkt 2 der Zusammenfassung sowie Abb. 11, 15 und 16).

4. Auf Reizung mit Sinuslicht treten zwei verschiedene, durch Übergänge miteinander verbundene ERG-Formen auf: sinusförmige und solche von der Form $U \sim \log \sin I$. Das ERG nähert sich um so mehr der Sinusform, je höher die Reizlicht-Frequenz und je kleiner das Verhältnis der Reizgröße ΔI zur Minimal-Intensität I_1 wird (Abb. 26, 27). — Dies ergibt sich zwangsläufig aus Punkt 3 der Zusammenfassung, wenn man die Zusammenhänge zwischen Amplitude und Reizgröße, wie sie sich bei Reizung mit rechteckförmigen Reizen verschiedener Dauer ergeben, als Kennlinien betrachtet (Abb. 36).

5. Die Dunkeladaptation ist bei den gewählten Versuchsbedingungen in 10—1000 sec abgeschlossen (Abb. 19, 21). Die Reaktion auf Testimpulse erreicht um so später einen bestimmten *Prozentsatz* (80%) der

ERG-Amplitude des vollständig dunkeladaptierten Auges, je länger die Dauer und je größer die Intensität der vorausgegangenen Helladaptation gewesen ist (Abb. 19—22).

Erfolgt Dunkeladaptation an eine bestimmte niedrige Helligkeit Ia_2 anstatt an völlige Dunkelheit, so wird die jeweilige 80%-Amplitude um so schneller erreicht, je größer Ia_2 ist (Abb. 23).

6. Die Helladaptation ist immer schon nach wenigen Sekunden abgeschlossen (Abb. 24).

7. Der Verlauf der Adaptation wird somit *nicht* durch eine *Zeitkonstante* bestimmt, wie z. B. bei der Lichtwachstumsreaktion von Phycomyces; die Adaptation gehorcht komplizierteren Gesetzmäßigkeiten.

8. Die Amplitude der ERGs bei Reizung mit rechteck- und sinusförmigen Lichtreizen bleibt annähernd konstant, wenn bei Variation von ΔI und I dafür gesorgt wird, daß $\Delta I/I$ konstant bleibt (Abb. 29, 34). Dieser Zusammenhang ergibt sich beim ERG der Rüsselkäfer aus dem logarithmischen Zusammenhang zwischen der Lichtintensität und dem von den Sinneselementen erzeugten Potential (s. Punkt 3 der Zusammenfassung).

9. Der Vergleich mit Ergebnissen verhaltensphysiologischer optomotorischer Experimente ergibt, daß der Reizzeitbereich (s. Zusammenfassung Punkt 3), innerhalb dessen Reizlichter linear in Erregung übersetzt werden, bei verhaltens- und elektrophysiologischen Experimenten der gleiche ist. Es zeigt sich, daß in beiden Arten von Experimenten bei gleichen Reizzeiten die *lineare* in eine *nichtlineare* Übersetzung übergeht. Die Verformung des linearen Reiz-Reaktions-Zusammenhanges erfolgt in derselben Richtung: Das physiologische mittlere Grau wird zu dunkleren Grauwerten verschoben (Kap. G, 1).

10. Die an den Augen elektrophysiologisch gemessenen Übertragungseigenschaften des ERGs entsprechen den Eigenschaften einer bestimmten Instanz (des *H*-Filters) der Funktionsstruktur (Abb. 37, 38), die von HASSENSTEIN, REICHARDT und VARJÚ aus der Analyse des optomotorischen Verhaltens des Rüsselkäfers Chlorophanus erschlossen worden war. Unter der Voraussetzung, daß das ERG diese Übertragungs-Instanz der Funktionsstruktur repräsentiert, kann eine offengebliebene Frage beantwortet werden: Die *H*-Filter liegen *vor* den *D*-Filtern.

Literatur

AUTRUM, H. J.: Die Belichtungspotentiale und das Sehen der Insekten. Z. vergl. Physiol. **32**, 176 (1950).

BERNHARD, C. G.: Isolation of retinal and optic ganglion response in the eye of Dytiscus. J. Neurophysiol. **5**, 32 (1942).

Bode, H. W.: Network analysis and feedback amplifier design, New York (van Nostrand) 1945. Aus W. Oppelt, Kleines Handbuch technischer Regelvorgänge, 2. Aufl., S. 91. Weinheim: Verlag Chemie 1956.

Delbrück, M., and W. Reichardt: System analysis for the light growth reactions of Phycomyces. Cellular mechanism in differentiation and growth. Fourteenth Growth Symposium. Princeton: University Press 1956.

Fuortes, M. G. F.: Electric activity of cells in the eye of Limulus. Amer. J. Ophthal. **46**, 210 (1958).

Hartline, H. K.: A quantitative and descriptive study of the electric response to illumination of the arthropod eye. Amer. J. Physiol. **83**, 466 (1928).

—, and P. R. McDonald: Light and dark adaptation of single photoreceptor elements in the eye of Limulus. J. cell. comp. Physiol. **30**, 225 (1947).

Hassenstein, B.: Über die Wahrnehmung der Bewegung von Figuren und unregelmäßigen Helligkeitsmustern. Z. vergl. Physiol. **40**, 556 (1958).

— Optokinetische Wirksamkeit bewegter periodischer Muster. Nach Messungen am Rüsselkäfer Chlorophanus viridis. Z. Naturforsch. **14b**, 659 (1959).

—, u. W. Reichardt: Der Schluß von Reiz-Reaktionsstrukturen auf System-Strukturen. Z. Naturforsch. **8b**, 518 (1953).

Küpfmüller, K.: Die Systemtheorie der Nachrichtenübertragung. Stuttgart: S. Hirzel 1949.

Macnichol, E. F.: Visual receptors as biological transducers. Aibs Publication Nr. 1. Molecular structure and functional activity of nerve cells. Amer. Inst. of Biol. Sci., Washington D. C., p. 34, 1956.

Ratliff, F., W. H. Miller and H. K. Hartline: Neural interaction in the eye and the integration of receptor activity. Ann. N. Y. Acad. Sci. **74**, 210 (1958).

Reichardt, W.: Autokorrelations-Auswertung als Funktionsprinzip des Zentralnervensystems. Z. Naturforsch. **12b**, 448 (1957).

—, u. D. Varjú: Übertragungseigenschaften im Auswertesystem für das Bewegungssehen. Z. Naturforsch. **14b**, 674 (1959).

Roeder, K. D.: Effect of cations on nervous system. J. cell. comp. Physiol. **31**, 327—338 (1948). Aus K. D. Roeder, Insect Physiology. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1953.

Stegemann, J.: Über den Einfluß sinusförmiger Leuchtdichteänderungen auf die Pupillenweite. Pflügers Arch. ges. Physiol. **264**, 113 (1957).

Varjú, D.: Optomotorische Reaktionen auf die Bewegung periodischer Helligkeitsmuster. Z. Naturforsch. **14b**, 724 (1959).

Walther, J. B.: Untersuchungen am Belichtungspotential des Komplexauges von Periplaneta mit farbigen Reizen und selektiver Adaptation. Biol. Zbl. **77**, 63 (1958).

Weber, E. H.: Der Tastsinn und das Gemeingefühl. In Wagners Handwörterbuch der Physiologie, Bd. 3, S. 481. 1846.

Wulff, V. J., W. J. Fry and F. A. Linde: Retinal action potential-theory and experimental results. J. cell. comp. Physiol. **45**, 247 (1955).

Kuno Kirschfeld, Max-Planck-Institut für Biologie, Abt. Reichardt, Tübingen, Spemannstraße 34

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 44, 414—450 (1961)

Aus dem Zoologischen Institut der Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg

ÜBER DIE AUFNAHME VON RADIOAKTIVEM SCHWEFEL IN DIE WACHSENDE VOGELFEDER NACH APPLIKATION VON ^{35}S-METHIONINLÖSUNGEN

Von

MANFRED LÜDICKE

Mit 27 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Januar 1961)

Inhalt

Seite

A. Einleitung und Problemstellung 414
B. Versuchstiere und Methodik 415
C. Ergebnisse der Versuche mit isotonischen ^{35}S-Methioninlösungen bei 416
a) *Melopsittacus undulatus* 416
b) *Pica pica* 429
c) *Columba livia* 435
D. Federanalysen 442
E. Schlußfolgerungen 444
Zusammenfassung 447
Literatur 449

A. Einleitung und Problemstellung

Untersuchungen von MACHLIN, PEARSON und DENTON (1955) hatten ergeben, daß Hühner und Küken zum Unterschied von Hühnerembryonen (LOWE und ROBERTS 1955) Sulfatschwefel für die Synthese von Cystin verwenden können. Von diesen Befunden ausgehend hatten wir zunächst versucht, mit Hilfe von isotonischen $Na_2\,^{35}SO_4$-Lösungen, die den Vögeln jederseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert wurden, eine Markierung der wachsenden Vogelfeder zu erreichen (LÜDICKE 1959 und 1961). Diese Arbeiten waren ursprünglich als eine Art von Vorversuchen geplant, ehe an die Verwendung recht kostspieliger radioaktiver Aminosäuren herangegangen werden konnte.

Nach Injektion des radioaktiven Sulfatschwefels ist insbesondere beim Wellensittich *(Melopsittacus undulatus)* eine rhythmische Ablagerung des Isotopes bzw. verschiedener Verbindungen mit diesem in den wachsenden Konturfedern festzustellen. Auf der Rhachis und den Federfahnen wurden autoradiographisch Querbänder nachgewiesen, die etwa den gleichen Winkel mit dem proximalen Schaftteil bildeten wie die natürlichen, in der anglo-amerikanischen Literatur als „bars" bezeichneten Zuwachsstreifen (WOOD 1950). Dieses von vornherein nicht zu erwartende Ergebnis gab die Veranlassung zu weiteren Untersuchungen über Wachstumsvorgänge in der Feder und damit in unmittelbarem Zusammenhang stehende stoffwechselphysiologische Probleme.

Die vorliegende Arbeit soll klären, ob bei der Applikation von $Na_2{}^{35}SO_4$ oder ^{35}S-Methionin-Lösungen qualitative und quantitative, den verwendeten Applikationslösungen zuzuordnende Unterschiede in der Ablagerung des radioaktiven Isotops bzw. verschiedener Verbindungen mit diesem in der Feder bestehen. Methionin selbst ist in der Hühnerfeder z. B. nur in wenigen Gewichtsprozenten nachweisbar (Ward und Lundgren 1954). Es könnte also das radioaktive Isotop in der Feder auch nach der Injektion von ^{35}S-Methionin-Lösungen in Form anderer Aminosäuren in der Feder abgelagert sein, worüber autoradiographisch ausgewertete papierchromatographische Analysen Auskunft geben. Vor allem aber wird in dieser Arbeit über Probleme des Federwachstums selbst berichtet, denn auch die Applikation radioaktiver Methioninlösungen erweist sich als eine geeignete Markierungsmethode für die Feder. Schon bei den Injektionsversuchen mit Sulfatschwefel konnte auf einen zweiten, mehr Zeit in Anspruch nehmenden stoffwechselphysiologischen Vorgang hingewiesen werden, der sich auf der Feder in der Form eines breiten Querbandes abzeichnete. Es wird daher in dieser Arbeit geprüft, ob das radioaktive Isotop bzw. die es enthaltenden Verbindungen sich gleichmäßig über die Feder verteilen, oder ob bestimmte, immer wieder auftretende und voneinander abgrenzbare Areale nachweisbar sind, die für die Verwendung von Methioninlösungen als kennzeichnend angesehen werden können. Weiter ist zu klären, ob solche abgrenzbaren radioaktiven Zonen vielleicht in sich wieder eine rhythmische Ablagerung des radioaktiven Isotopes erkennen lassen und ob Unterschiede in den verschiedenen Federtypen und Federgrößen bestehen. Da bei der Feder die Dorsal- und Ventralseite morphologisch deutlich differenzierbar sind, werden auch die damit in Zusammenhang stehenden Besonderheiten in der Form der Ablagerung des radioaktiven Schwefels beachtet. Dabei könnte z. B. auch an eine durch bestimmte Haftvorrichtungen bedingte unterschiedliche Ablagerung des radioaktiven Isotops gedacht werden (vgl. Sick 1937 und 1938).

B. Versuchstiere und Methodik

Aus Gründen der Vergleichsmöglichkeit zu den Ergebnissen unserer früheren Arbeiten mit isotonischen ^{35}S-Sulfatlösungen wurden folgende Versuchsvögel verwendet: Wellensittiche: *Melopsittacus undulatus* (Gould), Elstern: *Pica pica* (Linnaeus) und außerdem Haustauben: *Columba livia* (Linnaeus).

Die Vögel wurden in Drahtkäfigen bei Zimmertemperatur gehalten. Eine zu starke Verschmutzung des Gefieders durch radioaktiven Kot und Exkretstoffe wurde zum Teil dadurch verhindert, daß die Käfige mit einem der jeweiligen Fußfläche der Vögel entsprechenden Drahtrost versehen wurden. Jedoch ist hierbei Vorsicht geboten, da sich die

Vögel häufig Verwundungen der Zehen und Füße zuziehen. In solchen Fällen wurde dann der Käfigboden selbst insbesondere nach der Applikation der radioaktiven Lösungen mehrfach gewechselt. Das radioaktive Isotop lag vor als eine isotonische ^{35}S-DL-Methioninlösung, die meist beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert oder peroral gegeben wurde. Die applizierten Strahlungsdosen lagen zwischen 0,05 und 1,2 mC.

Die Applikation der radioaktiven Methioninlösungen erfolgte während des Wachstums der Primärfedern von Jungvögeln, aber auch während des Wachstums der Sekundärfedern nach der natürlichen Mauserung oder künstlichen Entfernung der vorangegangenen Federgeneration. Bei einigen Vögeln wurde selbst noch in der dritten und vierten Federgeneration nach dem Applikationstermin die Aufnahme des radioaktiven Isotops bzw. verschiedener Verbindungen mit diesem untersucht.

Das radioaktive Isotop wurde in der Feder mit Hilfe eines Methan-Durchflußzählers (LANGE, Heidelberg) bzw. eines Monitor-Gerätes der gleichen Firma lokalisiert, um dann autoradiographisch mit höchstempfindlichen Röntgenfilmen auf Blauunterlage der Firma ADOX nachgewiesen zu werden.

Für die Federanalysen wurden Federhydrolysate ein- und zweidimensional auf SS 2043b chromatographiert (Laufmittel: Butanol-Eisessig-Wasser bzw. Phenol-Wasser).

C. Ergebnisse der Versuche mit isotonischen ^{35}S-Methioninlösungen

a) Melopsittacus undulatus

Einem 24 Tage alten Jungvogel wurden 0,45 ml einer radioaktiven isotonischen ^{35}S-haltigen DL-Methioninlösung beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert. Die Strahlungsmenge dieser Lösung entsprach 0,45 mC. Nach 29 Tagen wurden die Hand- und Armschwingen, einige Federn des Daumenflügels sowie einige Hand-, Arm- und Oberschwanzdecken neben Hals- und Rückengefieder entfernt.

Die Hand- und Armschwingen wurden ebenso wie die später entfernten Schwanzfedern durch meinen Mitarbeiter, Herrn MAUCHER, auf ihr natürliches Wachstum kontrolliert. Seine Ergebnisse seien, da sie für die Beurteilung der Lage des radioaktiven Feldes auf den Federn von Bedeutung sind, hier anschließend mitgeteilt. Die 4. Handschwinge war am Tage der Applikation 32,5 mm, die 7. 37,0 mm und die 10. dagegen nur 36,0 mm lang. Vor der Entfernung der Federn nach 29tägiger Versuchsdauer wurden entsprechende Längen von 50,0, 63,5 und 70,0 mm gemessen. Die 4. Handschwinge hatte ihre endgültige Länge bereits 13 Tage, die 7. und 10. dagegen erst etwa 18 Tage nach Versuchsbeginn erreicht. Alle drei Federn waren also bei ihrer Entfernung vollständig ausgewachsen. Die vor allem in einem Kleiner-

werden der täglichen Zuwachsrate gegen Ende des Federwachstums bestehende ungleichmäßige Wachstumsgeschwindigkeit, muß natürlich bei der Zuordnung der radioaktiven Strahlungszonen ihre Berücksichtigung finden. Für die 4. Handschwinge, die hier als Beispiel wiedergegeben werden mag, ist in der Zeit vom Tage der Applikation bis zum Ausgewachsensein der Feder ein äußerer Wachstumszuwachs von 17,5 mm zu errechnen. Die äußere Länge der Feder betrug am Tage der Applikation 32,5 mm.

An der Strahlungszone selbst konnte bei der 1. bis 10. Handschwinge ein distales, schwaches, schmales Strahlungsband festgestellt werden, dessen distaler Rand selbst in etwa dem Winkelverlauf des natürlichen Zuwachsstreifens entspricht. Dieser Rand liegt bei der 4. rechten Handschwinge auf der Rhachis 22 mm von der Spitze der ausgewachsenen Feder entfernt. Da aber die äußere Länge bei der Applikation 32,5 mm betrug, muß das radioaktive Isotop oder dessen Derivate 10,5 mm von der Oberfläche der Haut aus distalwärts gewandert sein. Auch die wesentlich stärker strahlende, proximal folgende radioaktive Zone, die eine mehr kurvenmäßig spitz distalwärts zur Rhachis verlaufende Begrenzung aufweist, würde bei der gleichen Art der Berechnung noch 8 mm in Richtung auf die Federspitze über das Oberflächenniveau gewandert sein. Die Spule der 4. ausgewachsenen Handschwinge wurde mit 15,5 mm gemessen, wovon also etwa 6 mm in der Haut verankert bleiben (vgl. Abb. 1).

Abb. 1

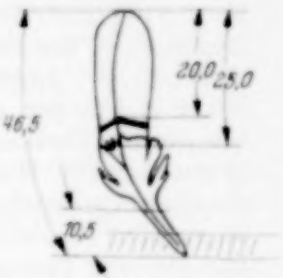


Abb. 2

Abb. 1. *Melopsittacus undulatus.* Einzeldiagramm der 4. rechten Handschwinge (vgl. Abb. 5a) mit den radioaktiven Strahlungszonen; *a* distales, schwaches Strahlungsband, *b* proximale, stärker strahlende Zone. Man beachte die unterschiedlich verlaufende Grenze dieser Strahlungszonen

Abb. 2. *Melopsittacus undulatus.* Einzeldiagramm der 1. rechten Armschwinge des gleichen Vogels wie bei Abb. 1 und 5

Diese als Beispiel gegebene Berechnung für die 4. Handschwinge gilt auch für die anderen Handschwingen.

Ein Vergleich der Verhältniswerte der Gesamtlängen der 1. bis 10. Handschwinge zu der Länge der proximalen starken Strahlungszone, gemessen am Federschaft, ergab Werte zwischen 1,78 und 1,54. Hierbei ergaben ebenfalls die niedrigsten Werte die 9. und 10. Handschwinge, während die Werte der 1.—6. Handschwinge zwischen 1,70 und 1,78 schwankten. Vergleiche hierzu das Diagramm der linken und

rechten Handschwingen, das auch über die Feder- und die Spulenlänge Auskunft gibt (Abb. 6).

Die erste rechte Armschwinge soll hier zur Beurteilung der Lage der distalen Grenze der radioaktiven Strahlungszonen als Beispiel für alle Armschwingen herangezogen werden (Abb. 2).

Diese Armschwinge hatte bereits 18 Tage nach der Applikation eine Außenlänge von 41,5 mm. Sie behielt diese Länge bei bis zum 29. Tag nach Versuchsbeginn, d.h. also, daß sie am Tage der Entfernung schon mindestens 10 Tage lang ihre vollständige Größe erreicht hatte. Am Tage der Injektion besaß die gleiche Feder eine äußere Länge von 25 mm. Sie war also während der Versuchsdauer um 16,5 mm weiter aus der Haut herausgewachsen und mußte mit der Spule in der Haut 5 mm gesteckt haben, denn die Differenz zwischen der Außenlänge und der Gesamtlänge der Feder lag bei 46,5—41,5 = 5 mm. Interessanterweise aber fand sich auf der Autoradiographie die Grenze der schwachen Strahlungszone am Schaft nur 20 mm von der Federspitze entfernt, d.h., daß das radioaktive Isotop bzw. dessen Derivate bei der wachsenden Feder, die am Applikationstage bereits 25 mm aus der Haut hervorragte, 5 mm über das Oberflächenniveau der Haut distalwärts gewandert sein mußten. Die distale Begrenzung des stark strahlenden, proximalen Zonenteils lag am Schaft 21,9 mm von der Spitze entfernt, so daß also hier das Isotop bzw. seine Derivate nach der Applikation 3,1 mm über das Oberflächenniveau der Haut distalwärts gewandert sein mußten.

Diese Befunde decken sich mit den Ergebnissen der Versuche an den Handschwingen und mit den früher mitgeteilten Versuchen über die Aufnahme des Sulfatschwefels bei der Vogelfeder. Sie zeigen andererseits, daß Unterschiede in dem Ausmaß des Emporwanderns über das Oberflächenniveau der Haut bestehen. Die als Beispiele herausgegriffene Hand- und Armschwinge befanden sich noch im vollen Wachstum, hatten eine annähernd gleiche definitive Länge, unterschieden sich aber sehr wesentlich in dem Längenwert des Emporwanderns des radioaktiven Isotops über das Oberflächenniveau der Haut. *Diese Werte des Emporwanderns des Isotops oder der entsprechenden Verbindungen mit ihm sind offenbar je nach dem Federtyp verschieden.*

Eine Messung der Schwanzfedern des gleichen Vogels ergab am Tage der Applikation für die 1.—6. Stoßfeder folgende Werte: 33,5, 33,0, 31,0, 28,0, 25,0 und 19,0 mm. Zwölf Tage vor dem Applikationsdatum waren die gleichen Federn mit ihren Scheiden gerade eben aus der Oberfläche der Epidermis hervorgetreten und besaßen äußere Längen von 3,0, 3,0, 3,0, 2,5, 2,0 und 1,5 mm. Daraus geht hervor, daß das Längenwachstum der Schwanzfedern über einen gleichen Zeitraum unterschiedlich ist. Dieser Unterschied im Längenwachstum kam auch zum Ausdruck in den äußeren Längen am Tage vor der Federentfernung, d. h. 44 Tage nach der Injektion des radioaktiven Isotopes. An diesem Tage waren alle Schwanzfedern ausgewachsen. Sie hatten ihre endgültige Länge bereits 28 Tage nach der Applikation erreicht. Die Längen der 1.—6. Schwanzfeder lagen bei 96,0, 67,5, 54,0, 47,5,

42,0 und 38,0 mm. Über den Wachstumsverlauf der 1., 3. und 6. Schwanzfeder gibt das Kurvenbild Abb. 3 Auskunft.

Die Ausmessung der Grenzen der radioaktiven Strahlungszonen soll hier wiederum als Beispiel für die 1. rechte Schwanzfeder durchgeführt werden. Sie besaß am Tage ihrer Entfernung eine Außenlänge von 96 mm bei einer Gesamtlänge von 102 mm, d.h., daß sie mit ihrer Spule 6 mm in der Epidermis verankert lag. Es konnte wieder eine distale, schmale, schwache Strahlungszone von einer proximalen starken Strahlungszone unterschieden werden. Die distale schwache Strahlungszone hatte eine Breite von 3,8 mm und war in sich unterteilt in eine sehr schmale äußere Strahlungszone von 1,2 mm und eine mehr proximale von 1,0 mm Breite. Dazwischen lag ein kaum strahlendes, schmales Band von eben-

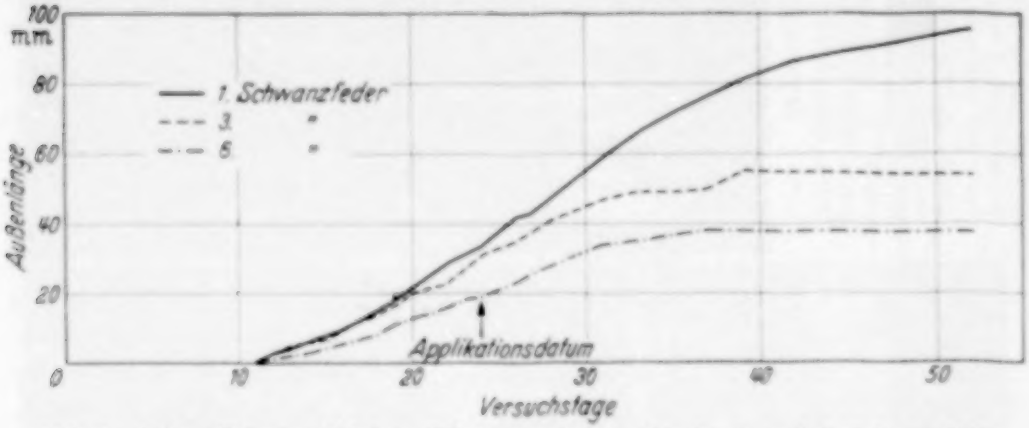


Abb. 3. *Melopsittacus undulatus.* Wachstumskurven der 1., 3. und 6. Schwanzfeder

falls 1,0 mm Breite. Gegen die starke Strahlungszone folgte ein ebenfalls kaum strahlendes Band von 0,6 mm Breite. Diese Unterteilung der schwachen, schmalen Strahlungszone entspricht offenbar dem Rhythmus in der Ablagerung des radioaktiven Isotopes, wie er auch bei den Versuchen mit einer isotonischen $Na_2{}^{35}SO_4$-Lösung beobachtet werden konnte (LÜDICKE 1961). Er dürfte auch dem Rhythmus der natürlichen Zuwachsstreifen zugeordnet werden können. Am Tage der Applikation hatte die Feder eine Länge von 33,5 mm. Die Entfernung der distalen Grenze der schmalen, schwachen Strahlungszone von der Federspitze betrug dagegen nur 22,5 mm.

Es müssen also das radioaktive Isotop bzw. seine Derivate nach der Applikation mindestens 11 mm über das Oberflächenniveau der Haut emporgewandert sein. Nimmt man nicht den Meßwert, sondern den Kurvenwert, so ergeben sich für die Wanderung des radioaktiven Isotopes bzw. dessen Derivate sogar 12 mm. Die distale Grenze der starken Strahlungszone beträgt, von der Spitze gemessen, 26,3 mm. Auch das würde bedeuten, daß sogar in diesem Falle das radioaktive Isotop bzw. dessen Derivate 7,2 mm (nach Meßwert) oder 8,2 mm (nach Kurvenwert) über das Oberflächenniveau der Haut gewandert sein müssen (vgl. hierzu das Diagramm Abb. 4). Der bisher für einzelne Federarten durchgeführten Lagebeschreibung der radioaktiven Zonen lagen Autoradiographien zugrunde, wie sie in den Negativen der Abb. 5a, b und c für die entsprechenden Seiten oder ihre Gegenseiten

wiedergegeben werden. Für nahezu alle Federn ist das schwache distale radioaktive Strahlungsband von der proximal stärker strahlenden Zone zu unterscheiden. Bemerkenswert ist ferner, daß bei dem den Federn dorsal aufliegenden Röntgenfilm im Bereich des distalen Teiles der Strahlungszonen der Schaft über eine gewisse Länge keine oder nur eine geringe Strahlung aufweist. Eigenartigerweise findet sich mehr im proximalen Bereich der radioaktiven Strahlungszonen eine spitzwinklige auf dem Schaft und seitlich von ihm gelegene sehr schmale, nahezu strahlungsfreie Zone, deren Zustandekommen zur Zeit nicht erklärt werden kann. Sie wurde auch bei Armschwingen anderer Vögel, allerdings sehr selten, angetroffen. Vielleicht hängt die Bildung dieser nahezu strahlungsfreien, spitzwinkligen Zone mit den Schaftleisten und den beiden Coriumpapillen zusammen. Allgemein nimmt nach einer gewissen Zeit auch die Intensität der Strahlung der proximalen Zone allmählich ab, wie es insbesondere bei der ersten Schwanzfeder und den größeren Handschwingen deutlich wird.

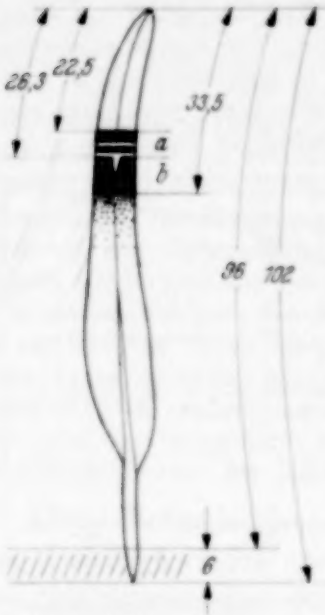


Abb. 4. *Melopsittacus undulatus.* Diagramm der 1. rechten Schwanzfeder eines Jungvogels mit den radioaktiven Zonen, 44 Tage nach der Applikation einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur. *a* Distales, schwaches, in sich rhythmisch unterteiltes, Strahlungsband, *b* proximale, stärker strahlende Zone. Längenwerte in Millimetern

An Stelle einer weitläufigen Berechnung der Lage der einzelnen Strahlungszonen sei hier im folgenden das Gesamtdiagramm der Schwung- und Schwanzfedern wiedergegeben (Abb. 6). Es gibt Auskunft über die Gesamtlänge der Federn, ihre Spulenlänge, die von diesen in der Haut verbleibenden Anteile, die Breiten der schmalen, schwachen Strahlungsbänder, sowie die Ausdehnung der großen, stark strahlenden proximalen Zonen.

Ein Vergleich der Entfernungen der distalen Grenzen der Strahlungszonen mit den äußeren Federlängen am Applikationstag zeigte für die zunächst als Beispiel herausgegriffenen Stoßfedern folgende Beziehung auf: *Gemäß Abb. 7 besitzen die kürzesten Federn auch die geringsten Längenwerte für das Emporwandern des radioaktiven Schwefels bzw. dessen Derivate über das Oberflächenniveau der Haut nach dem Applikationszeitpunkt.* Offenbar verläuft aber die Kurve für das Emporwandern des radioaktiven Materials bei zunehmender Federlänge nicht gerade, sondern in einem leichten Bogen, so daß sie sich bei der 2. und 1. Schwanzfeder asymptotisch einem Maximalwert nähern oder sogar um einen gewissen Betrag abfallen kann. Diese Feststellung gilt sowohl für die proximale intensive, als auch für die distale schwache Strahlungs-

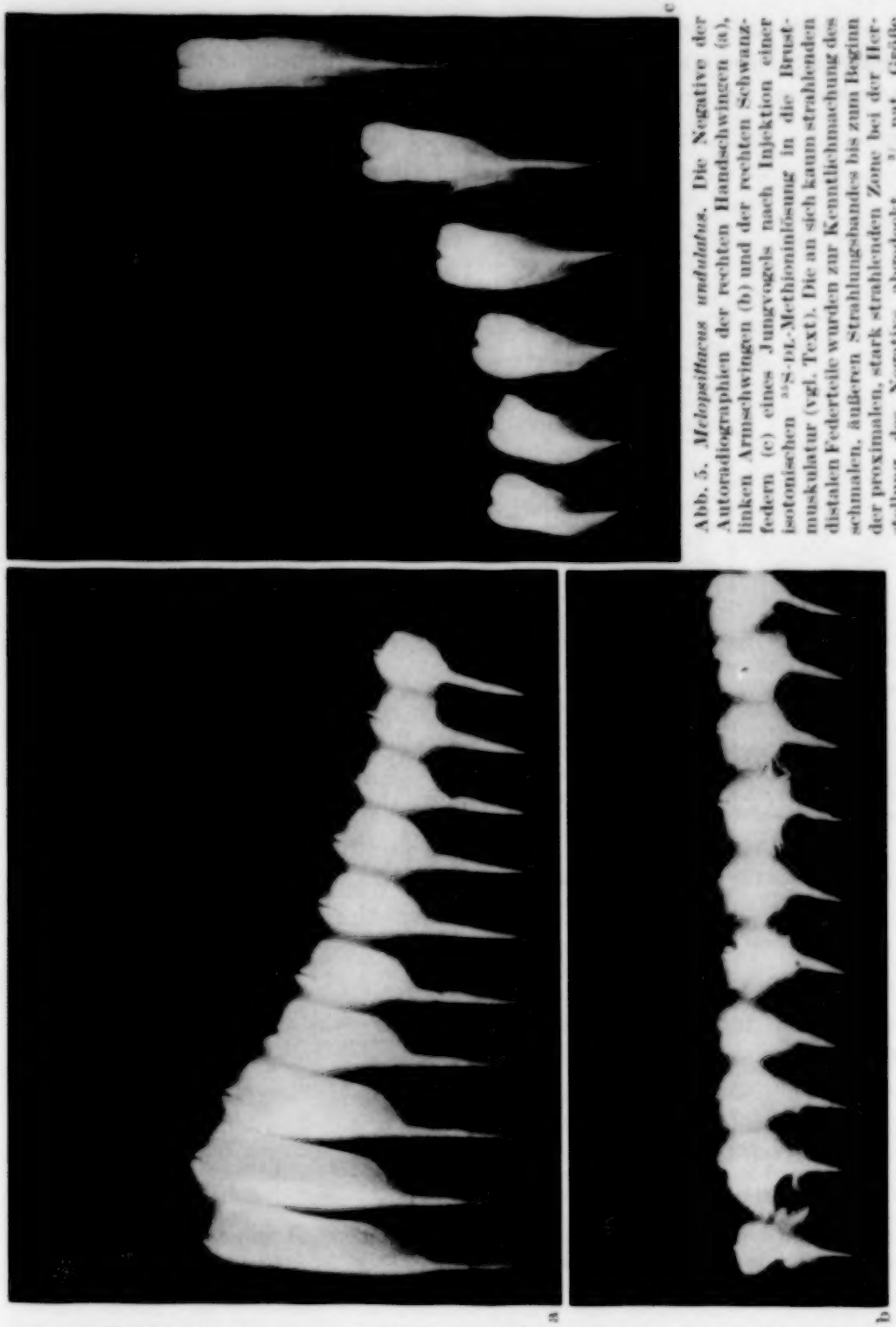


Abb. 5. *Melopsittacus undulatus*. Die Negative der Autoradiographien der rechten Handschwingen (a), linken Armschwingen (b) und der rechten Schwanzfedern (c) eines Jungvogels nach Injektion einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur (vgl. Text). Die an sich kaum strahlenden distalen Federteile wurden zur Kenntlichmachung des schmalen, äußeren Strahlungsbandes bis zum Beginn der proximalen, stark strahlenden Zone bei der Herstellung des Negativs abgedeckt. $^3/_4$ nat. Größe

zone. Eigenartigerweise werden im Kurvenverlauf zuweilen wellenartige Rhythmen beobachtet, die hier zunächst nur der Vollständigkeit halber erwähnt werden sollen. Ihre mutmaßlichen Ursachen und ihre Bedeutung mögen später erörtert werden.

Wenn das radioaktive Isotop in den Hand- und Armschwingen sowie den Schwanzfedern aufgefunden werden konnte, so war von vornherein zu erwarten, daß auch eine Ablagerung des radioaktiven

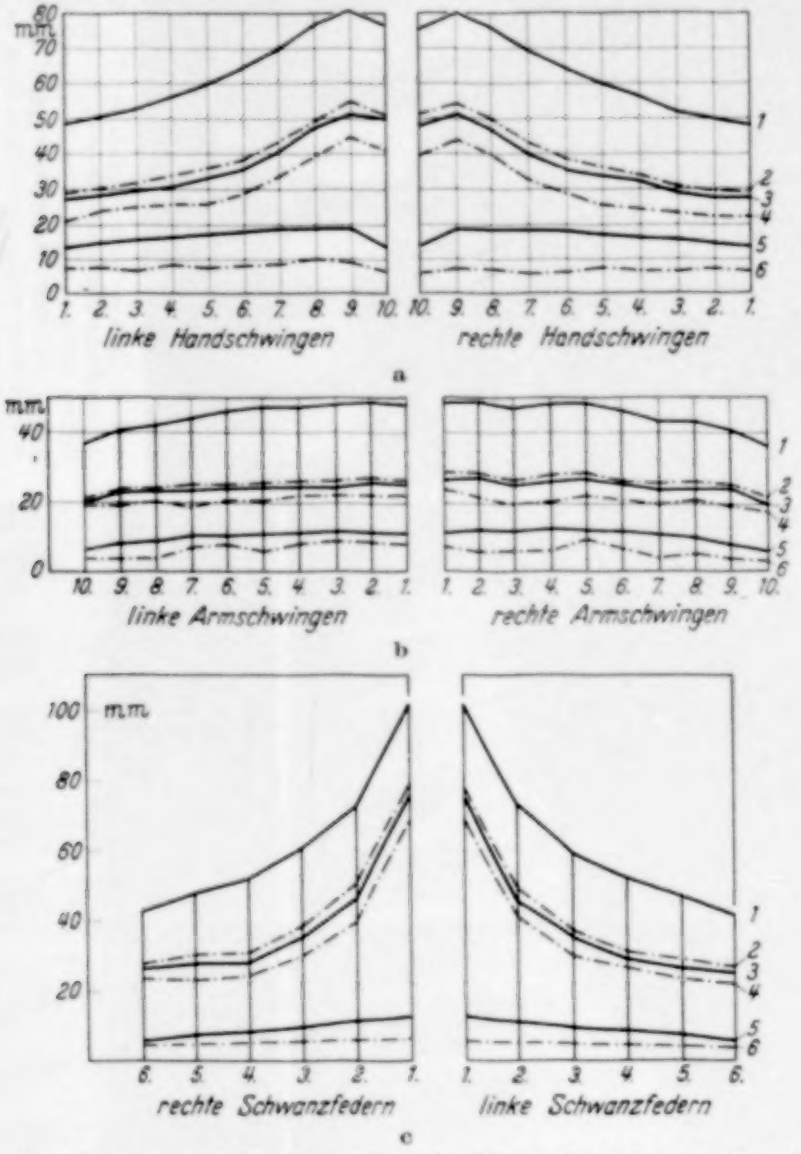


Abb. 6. ***Melopsittacus undulatus.*** **Diagramme der Handschwingen (a), Armschwingen (b) und Schwanzfedern (c) mit der Gesamtfederlänge (*1*), der Spulenlänge (*5*), der Länge des in der Haut verbleibenden Spulenteiles (*6*) sowie der Entfernung der distalen (*2*) und proximalen (*3*) Strahlungszonen, die ebenso wie die Federlänge am Applikationstag (*4*) von der Spitze her gemessen wurden. Es handelt sich um einen Jungvogel, dem 0,45 mC einer isotonischen radioaktiven ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur injiziert wurden. Versuchsdauer 29 Tage**

Materials beim Kleingefieder stattfinden mußte. Beim Rückengefieder, ebenso wie bei den Hand-, Arm- und Oberschwanzdecken sind deutliche Strahlungszonen zu erkennen. Bei den Armdecken treten sogar die sog. Hungerstreifen durch hellere Querlinien unter einem bestimmten Winkel

zum Federschaft hervor, und bei den Oberschwanzdecken ist ein distales schwaches Strahlungsband, ähnlich wie bei den Schwung- und Schwanzfedern erkennbar.

Aus einem Vergleich der Abb. 5a und b ergibt sich, daß die Länge der radioaktiven Strahlungszone um so kürzer ist, je fertiger die Feder am Applikationsdatum ist. Die 8. Handschwinge wuchs nach dem Applikationsdatum noch um etwa das Doppelte ihrer Länge, während die 8. Armschwinge sich nur um das 1,7fache verlängerte. Die 9. Armschwinge war bereits 9 Tage nach der Applikation ausgewachsen, während die 9. Handschwinge dazu 18 Tage benötigte.

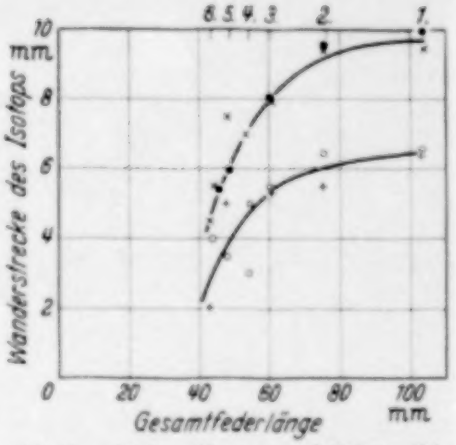


Abb. 7. *Melopsittacus undulatus.* Die Gesamtlänge der Schwanzfedern in Abhängigkeit von der Wanderstrecke des radioaktiven Isotopes in der Feder über das Oberflächenniveau der Haut beim gleichen Jungvogel wie bei Abb. 6. Die Zahlen am Kurvenverlauf entsprechen den Ordnungszahlen der Schwanzfedern. Die Entfernungen der Strahlungszonengrenzen wurden von der Federspitze her gemessen und ihre Differenz zu den Außenlängen der Federn am Applikationstag berechnet. Rechtes (×), linkes (●) distales Strahlungsband, rechte (+), linke (○) proximale Strahlungszone

Ein anderer Jungvogel erhielt in einem früheren Stadium, d. h. 20 Tage nach dem Schlüpfen die doppelte Dosis einer radioaktiven ^{35}S-DL-Methionin-Lösung, nämlich 0,9 mC in die Brustmuskulatur injiziert. Er war 4 Tage jünger als der oben beschriebene Jungvogel. Dieser Altersunterschied tritt auch deutlich in der Länge der radioaktiven Strahlungszonen der Hand- und Armschwingen, sowie der Schwanzfedern hervor (Abb. 8a, b und c).

Die Hand- und Armschwingen sowie die Schwanzfedern zeigen basalwärts eine Abnahme der Strahlungsintensität der proximalen Strahlungszone, wobei aber der Schaft seine verhältnismäßig starke Strahlung länger beibehält als die Außen- und Innenfahne. Der basale Spulenteil läßt aber ebenfalls eine Abnahme der Strahlungsintensität erkennen. Das schmale distale, schwache Strahlungsband ist bei nahezu allen Federn erkennbar und zeigt auch hier einen Strahlungsrhythmus mit zwei Maxima sowie einer deutlichen Winkelbildung seiner apikalen Grenze gegen den proximalen Schaftteil. Bei den Schwanzfedern liegt dieser Winkel bei nahe 90°. Die proximale, stark strahlende Zone hat dagegen eine wieder mehr unregelmäßig im Bogen verlaufende apikale Begrenzung.

Vergleicht man die Negative der Autoradiographien der 1. Schwanzfeder rechts von der Dorsalseite mit derjenigen von der Ventralseite, so beobachtet man bei dem Negativ der Ventralseite apikal eine kurze helle Markierung des Federschaftes

über die distale Grenze der proximalen Strahlungszone hinaus, während auf der Dorsalseite eine Einkerbung am Schaft erkennbar ist (Abb. 9a). Bei den ab-

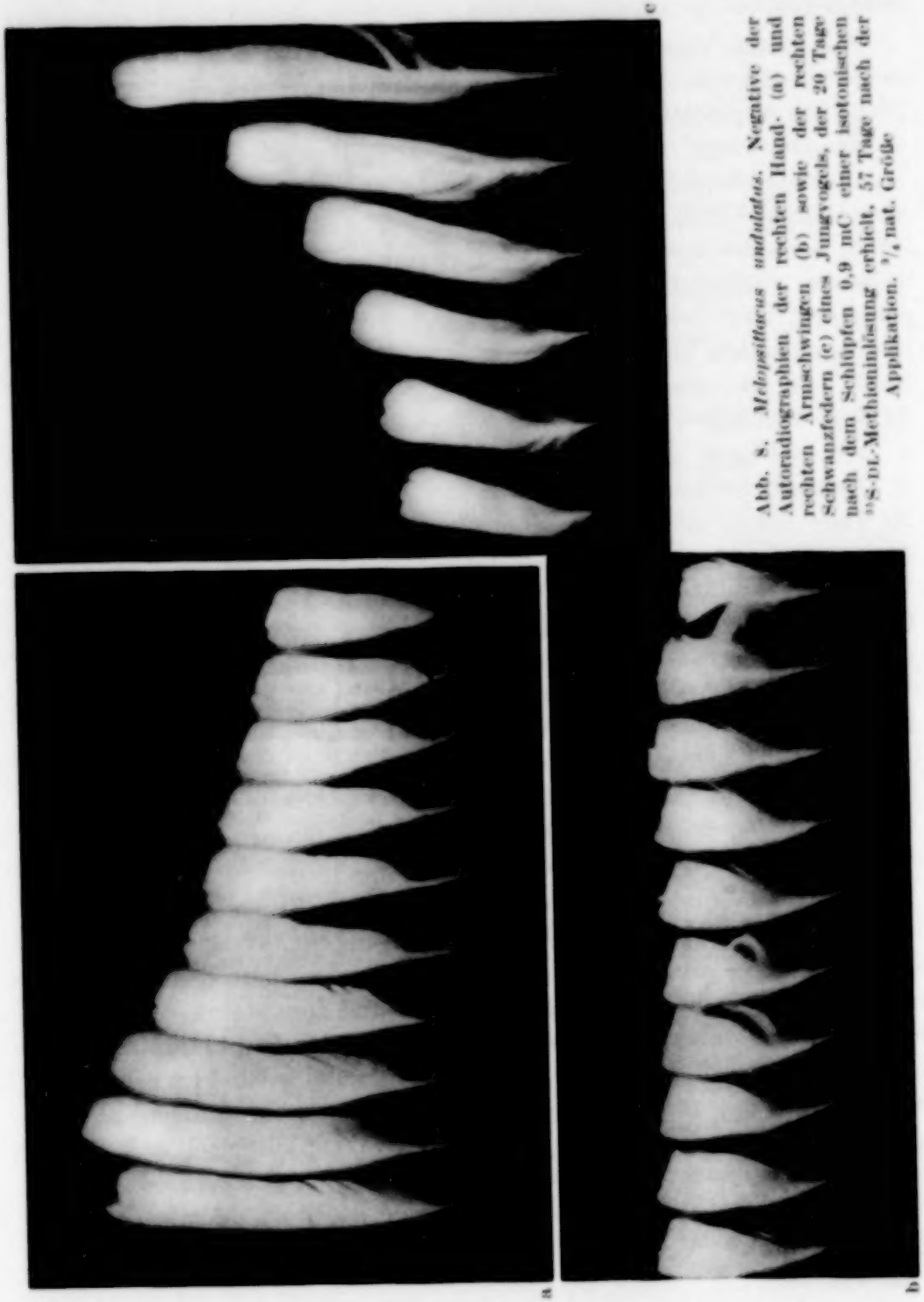


Abb. 8. *Melopsittacus undulatus*. Negative der Autoradiographien der rechten Hand- (a) und rechten Armschwingen (b) sowie der rechten Schwanzfedern (c) eines Jungvogels, der 20 Tage nach dem Schlüpfen 0,9 mC einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung erhielt, 57 Tage nach der Applikation. $^{3}/_{4}$ nat. Größe

gebildeten Negativen der Schwanzfeder ist eine nahezu gleiche Strahlungsintensität von dorsal und ventral zu verzeichnen, dagegen konnte bei den Negativen der

Dorsal- und Ventralseite der 10. linken Handschwinge z. B., wie sie in Abb. 9b wiedergegeben sind, bei gleicher Belichtungszeit eine stärkere Strahlung der Oberseite erhalten werden. Dies erscheint insofern von Bedeutung zu sein, als bei einer

Abb. 9. *Melopsittacus undulatus.* Die Ober- und Unterseite der 1. rechten Schwanzfeder (a) und der 10. linken Handschwinge (b) des Jungvogels wie in Abb. 8. *d* Dorsalseite, *v* Ventralseite. $^{2}/_{3}$ nat. Größe

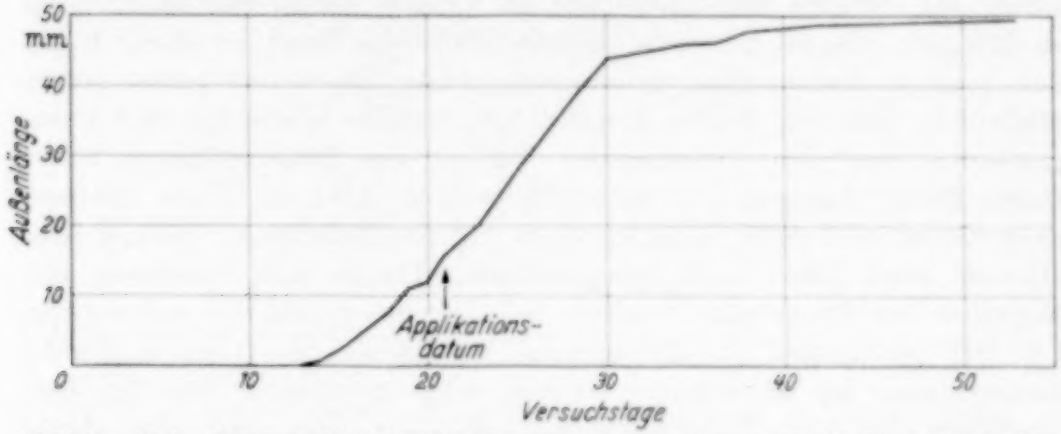


Abb. 10. *Melopsittacus undulatus.* Wachstumskurve der 4. rechten Handschwinge eines Jungvogels, dem 20 Tage nach dem Schlüpfen 0,9 mC ^{35}S-DL-Methioninlösung injiziert wurden.

Ablagerung des Isotopes von der ventralen Coriumpapille her eher die ventrale Federseite eine stärkere radioaktive Strahlung aufweisen müßte.

Für die Berechnung der Lage der apikalen Grenzlinien der proximalen und distalen Strahlungszonen mag auch hier wieder die 4. rechte

Handschwinge mit ihrer Wachstumskurve (Abb. 10) und dem Diagramm der Strahlungszonen und Längenverhältnisse (Abb. 11) dargestellt werden. Die 4. Handschwinge wurde deswegen als Beispiel herausgegriffen, weil auf diese Weise Vergleichsmöglichkeiten zu dem vorher besprochenen älteren Jungvogel mit einer wesentlich geringeren applizierten Strahlungsdosis gegeben sind. An Stelle einer weitläufigen Beschreibung seien auch hier wieder die Diagramme der Schwung- und Schwanzfedern mit der Gesamtlänge, Spulenlänge, dem in der Haut verankerten Spulenabschnitt, den Längen der beiden Strahlungszonen und den Federlängen am Applikationstag, gemessen von der Federspitze, wiedergegeben (Abb. 12).

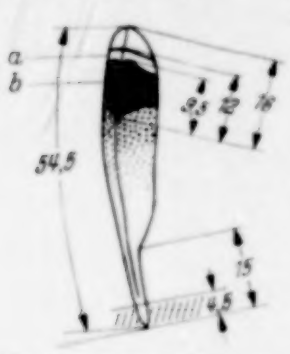


Abb. 11. *Melopsittacus undulatus*. Diagramm der 4. rechten Armschwinge des gleichen Jungvogels wie in Abb. 8. *a* Distales, schwaches Strahlungsband; *b* proximale stark strahlende Zone

Federn des Daumenflügels, der großen Hand- und Armdecken, Teile des Hals- und Rückengefieders, sowie Ober- und Unterschwanzdecken des gleichen Vogels sind in den Negativen der Autoradiographien der Abb. 13 wiedergegeben. Bei den Federn des Daumenflügels, den großen Hand- und Armdecken sowie den Ober- und Unterschwanzdecken wurden die Negative so hergestellt, daß der jenseits der Grenze der proximalen stark strahlenden Zone gelegene apikale Federteil wesentlich schwächer belichtet wurde. Auf diese Weise war es möglich, das schwach strahlende Band der distalen Strahlungszone in einigen Fällen zur Darstellung zu bringen. Dieses schwache distale Strahlungsband ist deutlich bei den großen Handdecken erkennbar. Seine Breite ist recht unterschiedlich. Bei den großen Handdecken wurden Werte bis zu 3,8 mm gemessen, bei den abgebildeten Federn des Daumenflügels hatte dieses Band dagegen nur eine Breite von 1,9 mm. *Diese Breitenunterschiede sind dabei nicht korreliert mit der Federlänge, sondern sind offenbar auch feder- und formspezifisch.* Da es sich durchweg um Negative der Dorsalseite handelt, sei hier noch auf die apikalwärts aus der proximalen Strahlungszone hervorragenden starken Strahlungsspitzen der schaftnahen Fahnenteile verwiesen, wie sie insbesondere bei den Armdecken zu erkennen sind. Bei den Armdecken sind auf dem Original sogar zwei Strahlungsmaxima in den apikalen Bändern geringerer Aktivität zu differenzieren. Das abgebildete Hals- und Rückengefieder wurde gleichmäßig belichtet, so daß hier das schwache Strahlungsband und der distale Federteil nicht mehr abgebildet werden.

Ein Intensitätsunterschied der Strahlung für die Ober- und Unterseite konnte auch bei den Unterschwanzdecken nicht festgestellt werden, dagegen war bisweilen in den mittleren Federteilen eine stärkere Strahlungsintensität an den

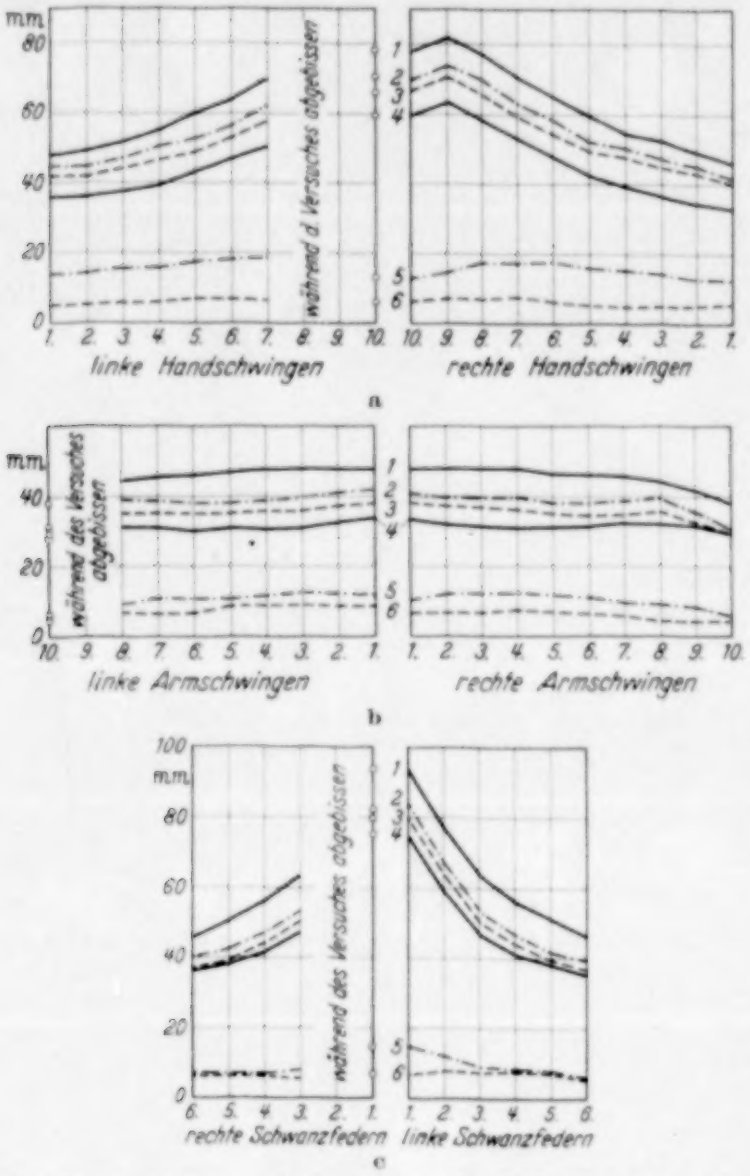


Abb. 12. *Melopsittacus undulatus*. Diagramme der Handschwingen (a), Armschwingen (b) und Schwanzfedern (c) mit der Gesamtfederlänge (*1*), der Spulenlänge (*5*), der Länge des in der Haut verbleibenden Spulenteiles (*6*), sowie der Entfernung der distalen (*2*) und proximalen (*3*) Strahlungszonen, die ebenso wie die Federlänge am Applikationstag (*4*) von der Spitze her gemessen wurde. Jungvogel, dem 0,9 mC einer isotonischen radioaktiven ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur injiziert wurden. Versuchsdauer: 57 Tage. Applikationsalter: 20 Tage

Spitzen der Rami auffindbar. Dies ist wenigstens zum Teil mit einer Abnahme des radioaktiven Materials im Vogelorganismus erklärbar, wie es auch beispielsweise in den Negativen der Oberschwanzdecken zum Ausdruck kommt. Bezeichnenderweise hielt der Schaft seine Strahlungsintensität proximal am längsten.

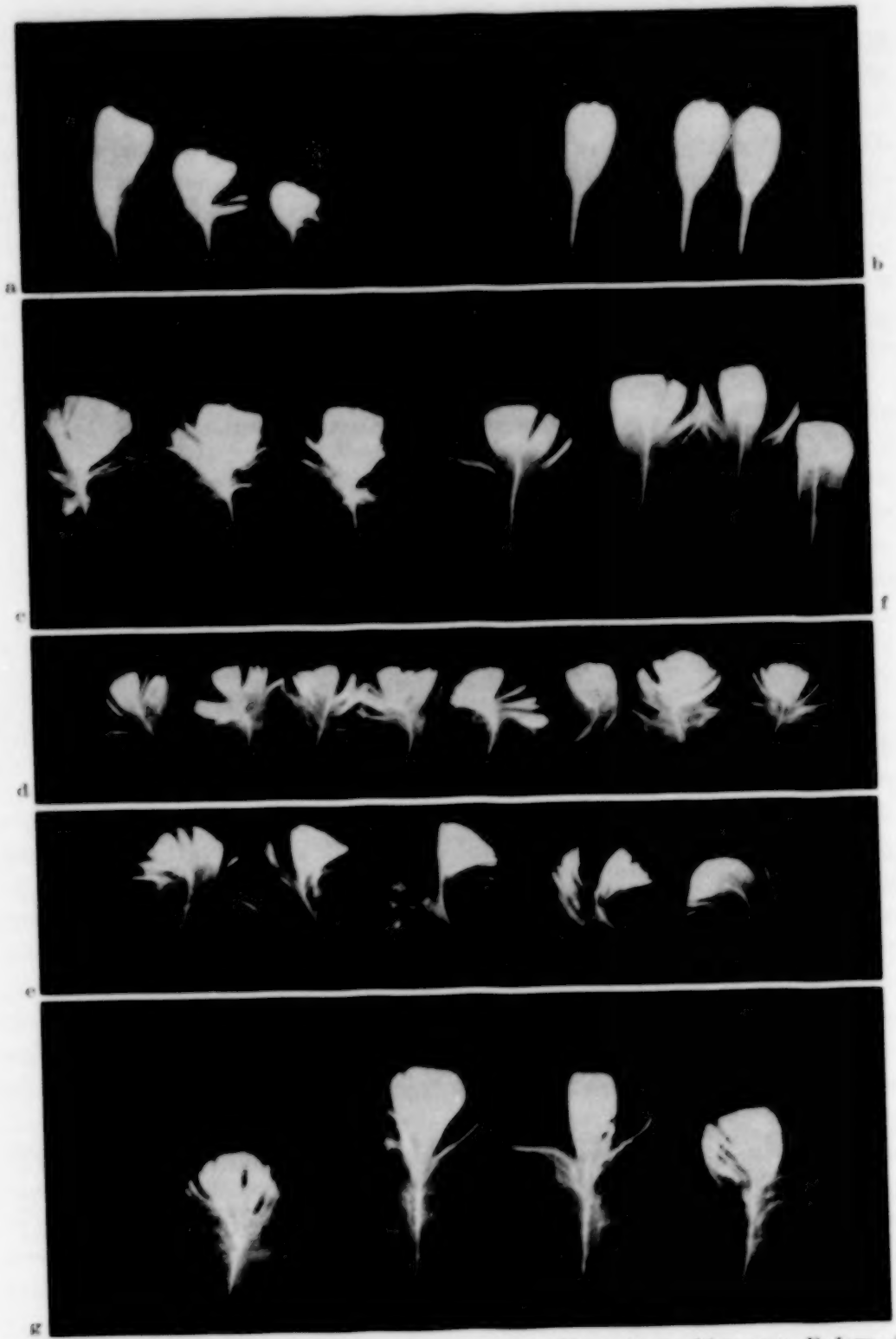


Abb. 13. *Melopsittacus undulatus*. Negative der Autoradiographien von Federn des Daumenflügels (a), der großen Handdecken (b) und der großen Armdecken (c), des Hals- (d) und Rückengefieders (e) sowie der Ober- (f) und Unterschwanzdecken (g). Der gleiche Vogel wie auf Abb. 8. Übrige Erklärungen im Text. nat. Größe

b) Pica pica

Einer Elster wurden 0,8 ml einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert. Die Menge entsprach einer Aktivität von 0,8 mC. Die Schwanzfedern, die bei diesem Versuch einer näheren Betrachtung unterzogen wurden, hatten bereits die Hälfte ihrer endgültigen Längen erreicht, befanden sich aber noch in dem mehr oder weniger gleichmäßig ansteigenden Bereich ihrer Wachstumskurve. Ihre endgültige Länge mag aus dem Diagramm der Schwanzfedern (Abb. 14) ersehen werden, aus dem auch die Außenlänge der Federn am Applikationstag hervorgeht. Entsprechend ihrer unterschiedlichen Größe am Tage der Applikation ergab eine Autoradiographie (Abb. 15), die 51 Tage nach diesem Termin angelegt wurde, eine in ihrer distalen Begrenzung verschiedene Lage der Strahlungszonen, denn auch hier war außer einem proximalen stark strahlenden Bereich ein distales wesentlich schwächer strahlendes Band erkennbar. Die Strahlungsintensität dieses Bandes war so gering, daß sie in dem Negativ der Autoradiographie nicht zum Ausdruck kommt. Für die Beurteilung der Begrenzung der radioaktiven Strahlungszonen im Vergleich zum Applikationstermin mag hier die 3. rechte Schwanzfeder herausgegriffen werden (Abb. 16). Für die übrigen Federn können die entsprechenden Werte aus dem Diagramm der Abb. 14 überschlagsmäßig ersehen werden.

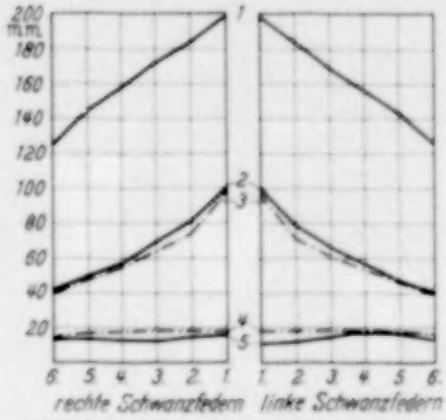


Abb. 14. *Pica pica*. Diagramm der Schwanzfedern eines Jungvogels, dem 0,8 mC einer isotonischen radioaktiven ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur injiziert wurden. 51 Tage nach dem Applikationsdatum wurden die Federn entfernt. Die Länge der Federn am Applikationstag (*3*) sowie die Begrenzung der proximalen Strahlungszone (*2*) wurden zu Vergleichszwecken von der Federspitze her aufgetragen. Gesamtfederlänge bei Versuchsende (*1*), Spulenlänge (*4*) und der in der Haut verankerte Teil der Spule (*5*)

Die 3. rechte Schwanzfeder hatte am Applikationstag eine Außenlänge von 107,0 mm, am Tage ihrer Entfernung eine Gesamtlänge von 171,0 mm, wovon 19 mm auf die Spule und 12 mm auf den in der Haut verankerten Teil derselben kommen. Die Entfernung der distalen Begrenzung der radioaktiven Zonen wurde auf der Autoradiographie von der Spitze aus mit 101,5 bzw. 104,5 mm gemessen. Vergleicht man diese Werte mit der Länge der Federn am Applikationstage, so ergibt sich eine Differenz von 5,5 bzw. 2,5 mm, um die das radioaktive Material nach der Applikation über das Oberflächenniveau der Haut distalwärts gewandert sein muß. Wie aus der Abb. 14 hervorgeht, ist ein solches Hochwandern des radioaktiven Materials über das Oberflächenniveau der Haut nicht bei allen Federn, zumindest aber nicht im gleichen Ausmaß, festzustellen. Es wurde vermißt bei der 5. und 6. linken sowie bei der 4. rechten Schwanzfeder und war wesentlich

geringer bei der 4. linken und der 5. sowie der 6. rechten Schwanzfeder. Es wird angenommen, daß diese Unterschiede unter anderem mit dem Alter der Federn

Abb. 15. *Pica pica.* Negativ der Autoradiographien der Schwanzfedern des gleichen Vogels wie Abb. 14. $^{2}/_{3}$ nat. Größe

zu erklären sind, denn die äußeren Stoßfedern sind in einem weit höheren Maße zum Applikationstermin ausgewachsen gewesen als die mittleren.

Schließlich soll bemerkt werden, daß der Schaft im Bereich der distalen Begrenzung der stark strahlenden proximalen Zone einen schmalen, kerbenartig proximalwärts gerichteten Bereich äußerst schwacher Strahlung aufwies. Dabei muß betont werden, daß es sich um Röntgenfilme handelte, die den Schwanzfedern auf der Dorsalseite auflagen.

Auffällig ist ferner, daß bei einem Vergleich der Längen der Schwanzfedern untereinander, wie sie in der Abb. 14 dargestellt werden, diese von außen nach innen einen stetigen, d. h. nahezu geraden oder schwach nach oben gebogenen Kurvenverlauf zeigen, während die Begrenzungslinien der radioaktiven Zonen entsprechend der Außenlänge am Applikationstage einen nach unten durchgebogenen Kurvenverlauf aufweisen.

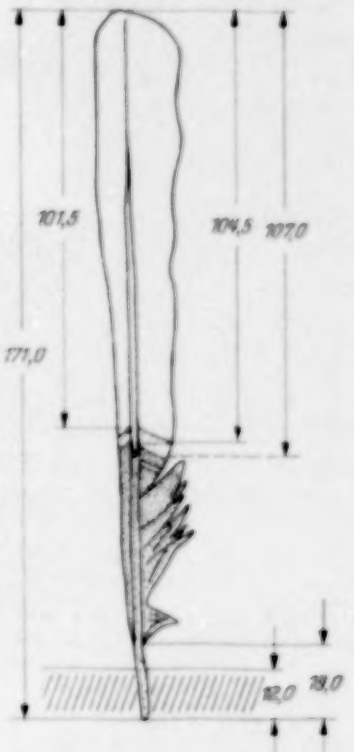


Abb. 16. *Pica pica*. Diagramm der 3. rechten Schwanzfeder des gleichen Vogels wie Abb. 14. Weitere Erklärungen im Text

Der gleichen Elster wurden vor dem Beginn einer zweiten Versuchsserie, d. h. 27 Tage vor der ersten Injektion einer weiteren Methioninlösung folgende Federn entfernt: Auf der linken Seite die 1. und 5. Handschwinge sowie die 1. und 3. Armschwinge, und ferner beidseitig alle Schwanzfedern. Der Vogel erhielt demnach fast 4 Wochen später an 6 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,5 ml einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung mit einer Aktivität von 0,1 mC in die Brustmuskulatur injiziert und die gleiche Dosis auch noch am 8. Tage, während ihm am 9. ein Restbetrag von 0,2 ml und einer Aktivität von 0,05 mC appliziert wurden.

Abb. 17a gibt die Negative der Autoradiographie der Sekundärfedern wieder. Man beachte bei den beiden Armschwingen (im Bilde links) und der 1. Handschwinge (rechts von der Bildmitte) die strahlungsfreie Kerbe an der distalen Grenze des radioaktiven Areals starker Strahlung. Die erste Handschwinge besaß am Tage ihrer Entfernung eine Länge von 137,0 mm, die fünfte (im Bilde rechts) eine solche von 136 mm. Die distalen Grenzen des proximalen Areals starker Aktivität lagen von der Spitze aber sehr unterschiedlich entfernt, nämlich bei 36 bzw. 1,5 mm. Die erste Handschwinge besaß am Tage der Applikation eine Außenlänge von 42 mm, während die 5. Handschwinge gerade eben aus der Epidermis herausragte, d. h. also, daß nur bei der 1. Handschwinge das radioaktive Material nach der Applikation über das Oberflächenniveau der Haut hinausgewandert sein muß, nämlich um einen Betrag von 6 mm. *Dieses unterschiedliche Verhalten des radioaktiven Isotopes bei den Schwungfedern unterstreicht seine Abhängigkeit von der Wachstumsphase, während der das Isotop*

appliziert wurde. Bei der 5. Handschwinge ist im übrigen deutlich eine proximalwärts fortschreitende Abnahme der Aktivität auf der Federfahne und dem Schaft zu erkennen.

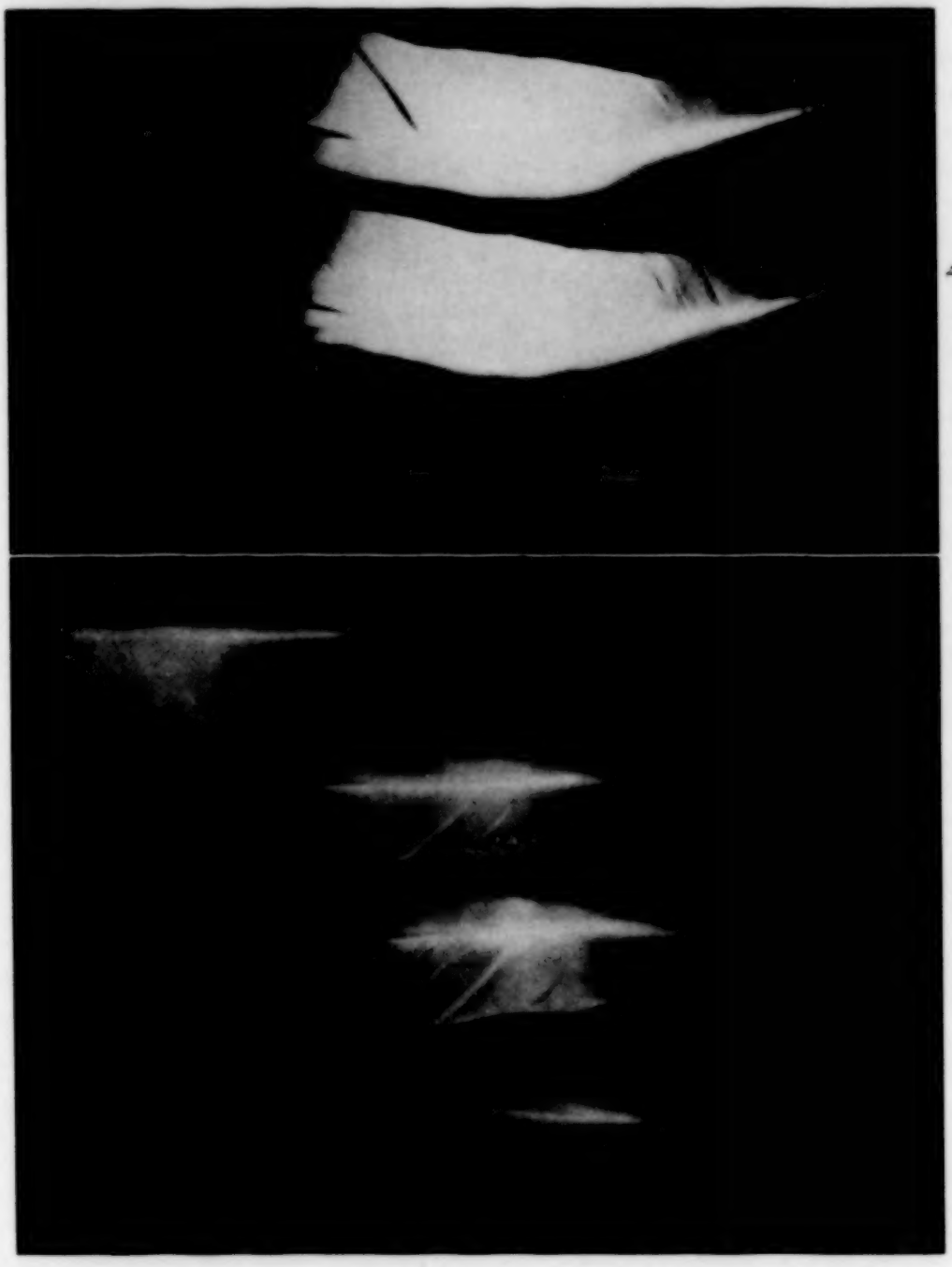


Abb. 17. *Pica pica.* Negative der Autoradiographien (a, von rechts nach links) der sekundären linken 5. und 1. Handsowie 1. und 3. Armschwinge, ferner (b) der sekundären rechten 3. und 1. Armschwinge sowie der tertiären rechten 1. Handschwinge (im Bild links) nach mehrfacher Injektion einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung (vgl. Text). $^2/_3$ nat. Größe

Die beiden linken Armschwingen besaßen definitive Längen von je 127,0 mm, die distalen Grenzen ihrer stark strahlenden Areale lagen im Bereich des Schaftes 39 bzw. 34 mm von der Federspitze entfernt. Die Außenlängen der Federn lagen am Tage der ersten Applikation bei

48 bzw. 47 mm, d. h. die Wanderungsbeträge des radioaktiven Isotopes über das Oberflächenniveau der Haut liegen in diesem Falle bei 9 bzw. bei 13 mm. *Dieser Befund deutet auf ein individuell verschiedenes Verhalten zweier Federn des gleichen Typs bei gleicher Länge.*

Für die 1. und 3. rechte Armschwinge (Abb. 17b), die am Tage ihrer Entfernung je 129,0 mm maßen, gilt folgendes. Die distale Grenze ihres stark strahlenden proximalen Bereiches lag im Schaftbereich bei 34 bzw. 35 mm, während die Außenlängen am Tage der Applikation bei 40 bzw. 41 mm lagen, d. h. also, daß auch hier das radioaktive Isotop um Beträge von je 6 mm über das Oberflächenniveau der Haut hinausgewandert sein muß. *Die Werte liegen aber wesentlich unter denen der Gegenseite und unterstreichen ein unterschiedliches Rechts/Links-Verhalten.* Bei der 1. rechten Handschwinge (Abb. 17b) handelt es sich um eine noch im vollen Wachstum gewesene Tertiärfeder, was allein schon aus der ihren basalen Teil umhüllenden Scheide zu erkennen ist. Diese Feder begann ihr Wachstum etwa in der Mitte der Versuchsperiode, was auch aus der geringeren Strahlung ihrer Federfahnen hervorgeht. Die Strahlungsaktivität ist etwa derjenigen des mittleren Teiles der 5. linken Handschwinge vergleichbar.

Interessant aber ist der Rhythmus in der Strahlungsintensität, wie er auf den Federfahnen der Tertiärfeder in einer Streifung zum Ausdruck kommt. Diese Streifen besitzen in etwa den gleichen Winkel zum proximalen Schaftteil wie die „bars". Eine Betrachtung dieser Federfahnenbezirke unter dem Binokular ergab eine dieser Streifung entsprechende Wellung, die insbesondere die Rami der Federfahne und ihre basalen Ansätze an der lateralen Schaftseite betraf. Auch die Dorsalseite des Schaftes zeigte entsprechende Erhebungen. Interessanterweise aber waren auf den dorsal aufgelegten Röntgenfilmen gerade die erhabenen Streifen der Federfahne, die sich durch eine größere Breite gegenüber den Vertiefungen auszeichneten, dunkler als diese.

Daß solche Gedankengänge für die Beurteilung der Verknüpfung von natürlichen stoffwechselphysiologischen Rhythmen in der Feder und dem Auftreten von Fehlstreifen Bedeutung besitzen, geht auch aus den Negativen der Autoradiographien der Schwanzfedern der gleichen Elster hervor (Abb. 18).

Die Federfahnen zeigen abgesehen von bestimmten, durch die mehrfachen Injektionen hervorgerufenen Schwankungen der Strahlungsintensität vor allem im Bereich des Federschaftes außerdem noch eine rhythmische Ablagerung des radioaktiven Isotopes auf den Federfahnen und mehrere Fehlstreifen. Insbesondere bei den linken Schwanzfedern tritt auf den Negativen kurz vor der distalen Grenze des stark strahlenden Areals ein schwarzer, nicht strahlender Fehlstreifen in Erscheinung. Sein Auftreten erfolgte bei diesen Federn zum gleichen Zeitpunkt, was

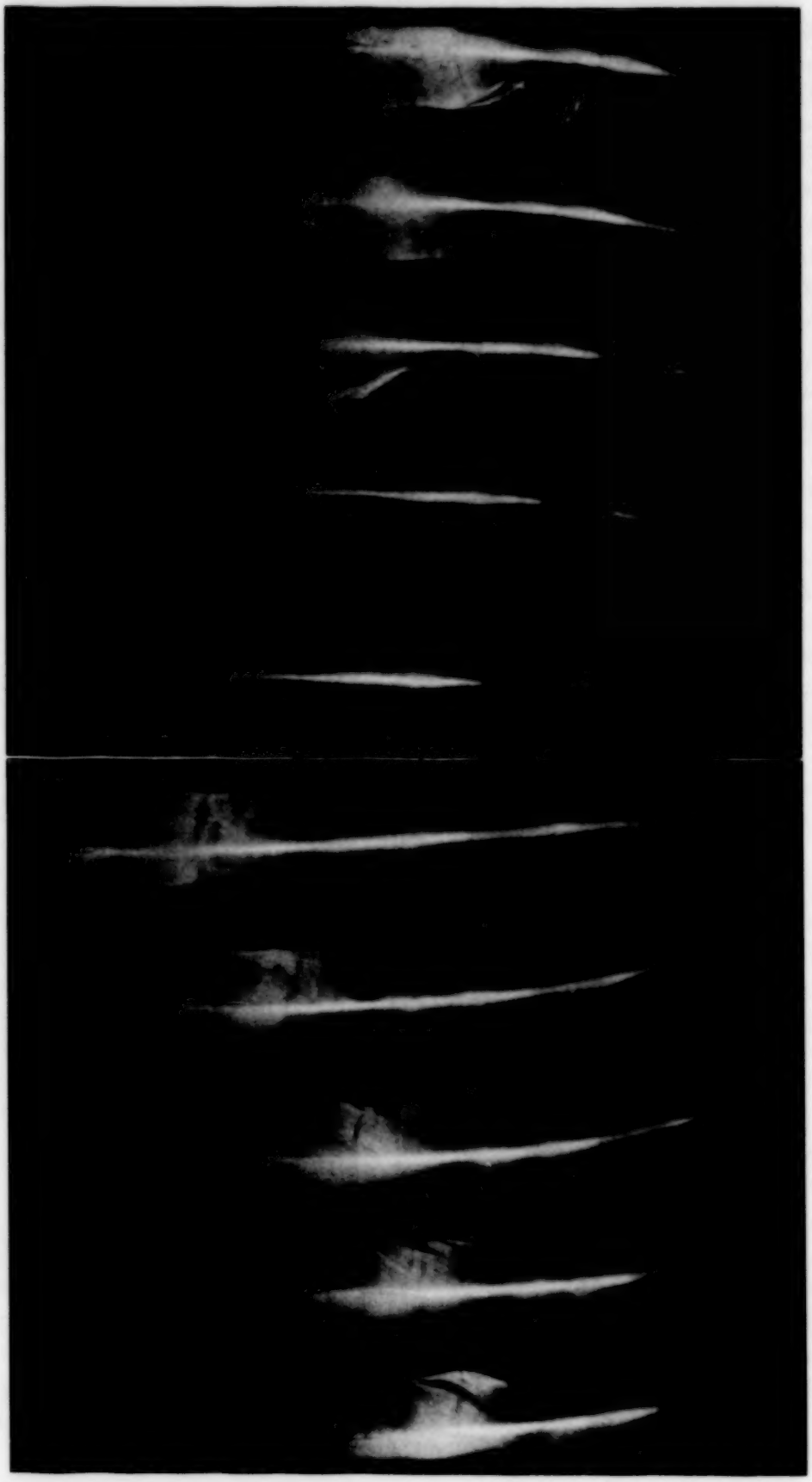


Abb. 18. *Pica pica*. Negativ der Autoradiographien der sekundären linken und rechten 2.—6. Schwanzfedern nach mehrfacher Injektion einer ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur (vgl. Text). $^{3}/_{5}$ nat. Größe

durch seine Lage bewiesen wird. Interessanterweise geht die distale Grenze des radioaktiven Areals der Innenfahnen nahezu parallel zu den entsprechenden distalen Querstreifen. Im mittleren Bereich der Strahlungszone ist bei der 3. linken und rechten Schwanzfeder ein schwacher Fehlstreifen erkennbar, der sich in den Rhythmus der radioaktiven Streifung einfügt. Ohne dabei an die Möglichkeit einer Verallgemeinerung dieses Befundes zu denken, haben wir hier den Fall, daß ein Fehlstreifen in die Zone der weniger starken Ablagerung des Isotopes fällt. Eine Beobachtung unter dem Binokular ergab, daß in der Mehrzahl der Fälle die Anlage der Fehlstreifen in schwachen Vertiefungen der Dorsalseiten der Federfahnen erfolgte. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß der Abstand der distalen Grenze des radioaktiven Areals von dem distalen Fehlstreifen mit der zunehmenden Ordnungszahl (bei der 3. Feder beginnend) abnimmt (Abb. 19).

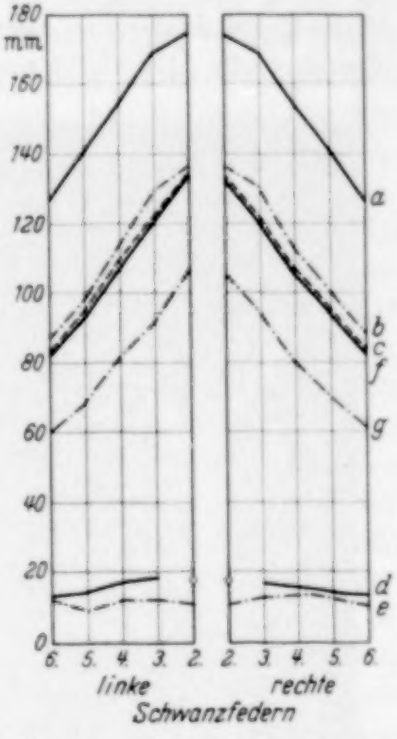


Abb. 19. *Pica pica.* Kurvendiagramm der linken und rechten 2.—6. Schwanzfeder mit den Federlängen bei Versuchsende (*a*), der distalen Grenze des radioaktiven Areals (*b*), den Außenlängen am ersten Applikationstag (von der Spitze gemessen) (*c*), Spulenlänge (*d*) und Länge des in der Haut verankerten Spulenteiles (*e*) sowie der Lage der Fehlstreifen (*f* und *g*). Bei den 2. Schwanzfedern waren die Spulenlängen nicht feststellbar, da sie sich noch im Wachstum befanden. Es handelt sich um das gleiche Versuchstier wie bei Abb. 17 (vgl. Text)

c) Columba livia

Mehreren Tauben wurden zu Vergleichszwecken zu den Versuchen an den Elstern 0,5—1 ml einer isotonischen radioaktiven ^{35}S-DL-Methioninlösung mit Aktivitäten von 0,05—1,20 mC in die Brustmuskulatur injiziert. Die Injektion erfolgte nach der Entfernung der Primärfedern.

Deutlicher als bei den Versuchen mit den Wellensittichen traten bei den Tauben die den Schaft betreffenden Unterschiede in den Autoradiographien der Dorsal- und Ventralseite der Schwungfedern hervor. Abb. 20 gibt die Negative solcher Autoradiographien der 5. linken sekundären Handschwinge wieder. Die Primärfedern dieser Taube wurden am 12. 1. entfernt und eine erste Injektion von 0,5 ml einer Methioninlösung mit einer Aktivität von 0,22 mC — es folgten noch vier weitere Injektionen mit gleicher Strahlungsmenge in Abständen von 24 Std — erhielt das Tier 19 Tage später. Die sekundäre Feder selbst wurde 9 Tage nach der ersten Injektion entfernt. Der Unterschied in den Autoradiographien der Dorsal- und Ventralseite kommt

darin zum Ausdruck, daß bei jener die Strahlung im apikalen Bereich der Strahlungszone auf dem Schaftteil wegfällt oder zumindest äußerst gering ist, während sie auf der Autoradiographie der Ventralseite im Gegensatz dazu das radioaktive Strahlungsfeld der Außen- und Innenfahne um einen wesentlichen Teil überragt, was sich auf dem Negativ in der Form einer hellen, hervorragenden apikalen Spitze zeigt. Es bleibt noch zu erwähnen, daß

a Abb. 20 b

Abb. 21 a

Abb. 21 b

Abb. 20. *Columba livia.* Negative der Autoradiographien der Dorsal- (a) und Ventralseite (b) der 5. linken Handschwinge nach mehrfacher Injektion einer radioaktiven Methioninlösung (vgl. Text). $^3/_4$ nat. Größe

Abb. 21. *Columba livia.* Negative der Autoradiographien eines Medianschnittes (a) durch die Spule und den proximalen Schaftteil sowie der Querschnitte (b) des gleichen Bereiches (vgl. Text). 2,3- bzw. 3,9fach

auf der Autoradiographie der Dorsalseite der Schaft median im apikalen Bereich einen sehr schmalen Längsstreifen stärkerer Strahlung aufweist. Dieser schmale Streifen stärkerer Strahlung kann auf dem Negativ der Autoradiographie wegen seiner Feinheit nicht wiedergegeben werden.

Einer anderen Taube wurden in 6 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,5 ml zu je 0,2 mC einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur injiziert, nachdem die Primärfedern 18 Tage zuvor entfernt worden waren. Die sekundären Schwanzfedern waren nach etwa 17 Tagen ausgewachsen und wurden 28 Tage nach der letzten Injektion entfernt.

Abb. 21a zeigt das Negativ der Autoradiographie eines Medianschnittes und Abb. 21b fünf Querschnitte in verschiedener Höhe von 2 Schwanzfedern. Der Medianschnitt zeigt im basalen Spulenbereich eine starke Strahlung der Spulenwand und in der unteren Hälfte den leichten, hellen Schleier von drei Hornkuppen, die sich beim Zurückziehen der Coriumpapille gebildet haben. Der Ort des Umbilicus inferior ist nahezu frei von einer radioaktiven Strahlung, während dagegen im Bereich des Umbilicus superior die Strahlung wieder verstärkt ist und den ganzen Schaftteil bis zu seiner apikalen Schnittfläche einnimmt. Der Schaft war hier mit Ausnahme von wenigen kleinen Hohlräumen oberhalb des Umbilicus superior dicht von Markzellen erfüllt. Die Querschnittsserie der Abb. 21b unterstreicht diesen Befund, denn die zwei linken Querschnitte lagen noch im Spulenbereich und weisen daher eine starke Wandstrahlung auf. Der etwas dünnere mittlere Querschnitt zeigt links die ebenfalls strahlenden Ansätze der Puderdunen. Der rechts folgende Querschnitt zeigt seitliche Ansätze der Rami, die ebenso wie der periphere Schaftteil stark radioaktiv waren. Nur im zentralen Gebiet des Schaftes lag zwischen den Markzellen ein Hohlraum, der sich auf dem Negativ durch eine leichte Schwärzung kundtut. Der in der Abb. 21b ganz rechts wiedergegebene Querschnitt besitzt links die Ansatzstelle eines kräftigen Ramus und ist vollkommen von Markzellen entsprechend dem apikalen Teil des Negativs des Medianschnittes erfüllt. Sowohl die Außenwand des Schaftes als auch die Markzellen und der Ramus sind stark radioaktiv. Im übrigen gibt der Querschnitt deutlich die ventrale Einbuchtung des Schaftes wieder. *Diese Negative der Autoradiographien beweisen einmal mehr, daß der radioaktive Schwefel des Injektionsmittels selbst bzw. in Form der ihn enthaltenden Derivate der applizierten Lösung nicht nur zwischen die Zellen des Federhornes eingelagert, sondern tatsächlich von diesem selbst aufgenommen wurde.*

Einer anderen Taube wurde 1,0 ml einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung einer Aktivität von 1,20 mC in die Brustmuskulatur 18 Tage nach Entfernen der Primärfedern injiziert. Die Sekundärfedern traten 7 Tage nach der Entfernung der Primärfedern in Erscheinung. Sie waren also am Tage der Injektion 10 Tage alt. Das Negativ der Autoradiographie der Dorsalseiten der 1.—7. linken Armschwinge (Abb. 22) ließ hierbei oberhalb des proximalen stark strahlenden Bereiches ebenfalls zwei schwache Strahlungsbänder erkennen, die in sich noch einmal in ein etwas stärkeres und ein etwas schwächeres

aber breiteres Strahlungsband unterteilt werden konnten. Im Gegensatz zu der distalen Begrenzung des großen, proximal gelegenen stark strahlenden Bereiches folgen diese apikalen schmalen Strahlungsbänder in ihrem Verlauf mehr dem Winkel der natürlichen Zuwachsstreifen bzw. auftretenden Fehlstreifen. Der Winkel der natürlichen Zuwachsstreifen wurde auf der Innenfahne in dem entsprechenden Bereich mit 79,5° gemessen, während der für die schwach strahlenden Bänder bei 80,8° lag.

Abb. 22. *Columba livia.* Negativ der Dorsalseiten der 1.—7. linken Armschwinge eines Tieres, dem 1,2 mC einer ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur 18 Tage nach der Entfernung der Primärfedern injiziert wurden. Beachte die schwachen apikalen Strahlungsbänder (vgl. Text). $^1/_2$ nat. Größe

Entsprechend der beigegebenen Wachstumskurve der 6. Armschwinge muß in dem Federabschnitt der schwachen Strahlungsbänder mit einem täglichen Wachstum von etwa 4,5 mm gerechnet werden (Abb. 23). *Das bedeutet, daß es sich bei den beiden apikalen Strahlungsbändern um stoffwechselphysiologische Rhythmen eines kleineren Zeitintervalls als demjenigen von 24 Std handeln muß.*

Bei den Autoradiographien bzw. ihren Negativen der rechten Armschwingen des gleichen Tieres wie in der Abb. 20 wurde im an sich strahlungsfreien apikalen Bereich eine rhythmische Bänderung der Außen- und Innenfahne und zum Teil auch des Schaftes beobachtet. Diese Bänderung, die auf den Negativen in der Form meist schmaler, dunkler und heller Bänder ihren Ausdruck fand, kann auf dreierlei Art und Weise entstanden sein: erstens durch verschieden starke Absorption an den natürlichen Zuwachsstreifen, zweitens durch eine gleichmäßige Absorption auf den Federfahnen bei einer strukturellen Verschiedenheit im Bereich der Zuwachsstreifen, oder drittens infolge einer Kombination der beiden vorgenannten Möglichkeiten. Eine Wirkung des radioaktiven Puders ist vor allen anderen Faktoren insbesondere deswegen in Betracht zu ziehen, weil gerade bei den Tauben die Entwicklung der Puderdunen stark ausgeprägt ist. Ein Emporwandern des radioaktiven Isotopes auch in Form von Derivaten in den vollständig abgestorbenen Federteil ist vollständig ausgeschlossen.

Daß das radioaktive Isotop bei der wachsenden und in ihrem basalen Coriumbereich stark durchbluteten Feder über das Oberflächenniveau der Haut apikalwärts wandert, beweist das Federdiagramm der 4. linken Schwanzfeder der gleichen Taube wie in Abb. 22. Nach diesem Federdiagramm (Abb. 24) hatte die Schwanzfeder am Tage der Injektion eine Außenlänge von 54 mm. 45 Tage nach der Applikation wurde die Feder entfernt. Sie war jedoch bereits 17 Tage nach der Injektion ausgewachsen (vgl. Abb. 23). Die beiden dunklen Teile der schwachen apikalen Strahlungsbänder waren 35,5 bzw. 39,5 mm von der Federspitze entfernt, während die stark strahlende basale Strahlungszone ihre distale Begrenzung im Bereich des Federschaftes bei etwa 45 mm Entfernung von der Federspitze besaß. Außer den für das Hochwandern

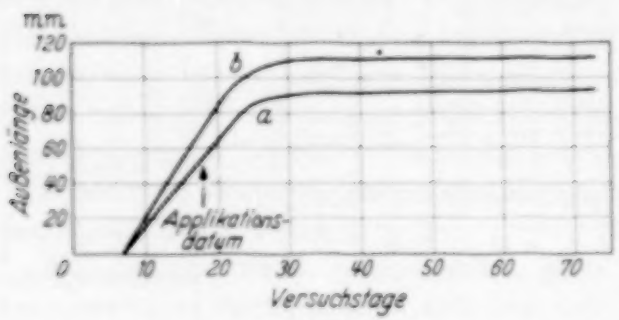


Abb. 23

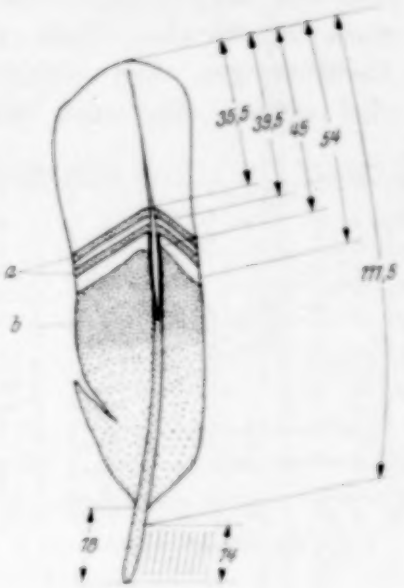


Abb. 24

Abb. 23. *Columba livia.* Wachstumskurve der 6. linken Armschwinge (*a*) und 4. linken Schwanzfeder (*b*) des gleichen Vogels wie Abb. 21. Der Pfeil bedeutet den Applikationstermin

Abb. 24. *Columba livia.* Federdiagramm der 4. linken Schwanzfeder mit den beiden dunklen Teilen der apikalen schwachen Strahlungsbänder (*a*) und der proximalen stark strahlenden Zone (*b*). Gleicher Vogel wie Abb. 22

des radioaktiven Isotops an sich belanglosen Längenwerten der Spule (18 mm) und der Federverankerung in der Haut (14 mm) kann also festgestellt werden, daß bei einer Außenlänge der fertigen Feder von 111,5 mm (Bogenmaß) das radioaktive Isotop 9 bzw. 14,5 bzw. 18,5 mm über das Oberflächenniveau der Haut nach der Injektion emporgewandert sein muß.

Es sei nochmals ausdrücklich betont, daß die Werte für die Federlängen am Applikationstag wie in allen anderen entsprechenden Abbildungen in dieser Arbeit stets nur von der Federspitze gemessen in das Kurvenbild eingetragen wurden, da nur auf eine solche Weise Vergleichsmöglichkeiten für das Emporwandern des radioaktiven Isotopes über das Oberflächenniveau der Haut nach dem Applikationstag gegeben sind. Dieses Emporwandern über das Oberflächenniveau der

Haut ist entsprechend der Abb. 25 für alle dargestellten Federn gegeben. Obwohl die erste Armschwinge nur wenige Millimeter kleiner bleibt als die erste Handschwinge, liegt das distale Querband ebenso wie die distale Grenze der radioaktiven stark strahlenden Zone näher der Federspitze als bei jener. Das gleiche gilt auch für die folgenden 6 Armschwingen und besagt, daß diese Federn am Applikationstag jugendlicher waren als die erste Handschwinge.

Interessant ist ferner, daß bei den Handschwingen die Verbindungslinie der Begrenzungen des distalen Querbandes und der radioaktiven stark strahlenden Zone nicht dem Verlauf der Verbindungen der definitiven Federlängen parallel gehen. Da auch die Verbindungslinie der

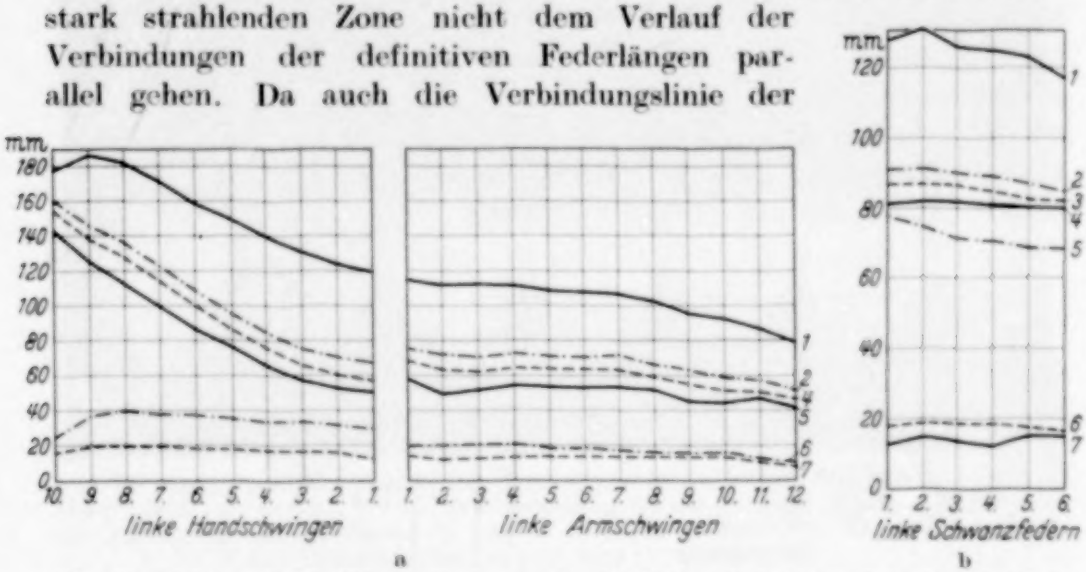


Abb. 25. *Columba livia*. Kurvendiagramm der definitiven Federlängen (*1*), der Abstände des distalen (*2*) und proximalen (*3*) Querbandes, der distalen Grenze der radioaktiven, stark strahlenden Zone (*4*) und der Federlängen am Applikationstag (*5*) — *2*, *3*, *4*, *5* gemessen von der Federspitze —, der Spulenlänge (*6*) und der in der Haut verankerten Spulenteillängen (*7*) der linken Hand- und Armschwingen (a) sowie der linken Schwanzfedern (b). Ordinate: Länge in Millimeter, Abszisse: Ordnungszahl der Federn. Für die Hand- und Armschwingen wurde der Abstand der proximalen Querbänder nicht eingezeichnet

von der Federspitze gemessenen Federlängen am Applikationstag dieses nicht tut, mag dieses eigenartige Verhalten auf diesem Unterschied begründet sein. Der Unterschied in dem Verlauf der Verbindungslinien der Grenzen der radioaktiven Zonen und der definitiven Federlängen beruht also auf unterschiedlichen Wachstumsgeschwindigkeiten, wie es durch den Verlauf der Verbindungslinie der Federlängen am Applikationstag bewiesen wird. Eigenartigerweise nimmt auch der Abstand zwischen dem distalen Querband und der distalen Grenze der radioaktiv stark strahlenden Zone mit der zunehmenden Ordnungszahl der Handschwingen ab. Ähnliches gilt auch für die Armschwingen. Aus dem Kurvendiagramm der Abb. 25 geht ferner hervor, daß die Spule der 10. Handschwinge relativ tiefer in der Haut verankert ist als die 1.—9. Dieser Befund kann seine Ursache nicht in der Federlänge haben. Die

relativ feste Verankerung der 10. Handschwinge ist mit ihren starken Beanspruchungen an der Vorderkante des Flügels zu erklären.

Auffallend ist auch die relativ kleine Spulenlänge der 1. bis etwa 7. Armschwinge bei relativ tiefer Verankerung in der Haut gegenüber der nur wenig größeren 1. Handschwinge mit mächtiger Spulenlänge, wobei die Spule noch nicht einmal bis zur Hälfte in der Haut verborgen ist.

Die Federlängen der Schwanzfedern verkleinern sich am Applikationstag und im ausgewachsenen Zustand mit zunehmender Ordnungszahl, wenn man den Endwert der Mittelfeder zum Vergleich nicht heranzieht. Ebenso verkleinern sich auch die Abstände des distalen und proximalen Querbandes von der distalen Grenze der radioaktiven, stark strahlenden Zone. Dagegen vergrößert sich bei ebenfalls steigender Ordnungszahl der Abstand dieser Grenzlinien von den von der Federspitze gemessenen Federlängendaten am Applikationstag. Auch bei den Schwanzfedern bemerkt man bei den Außenfedern eine stärkere Verankerung der Spule in der Haut.

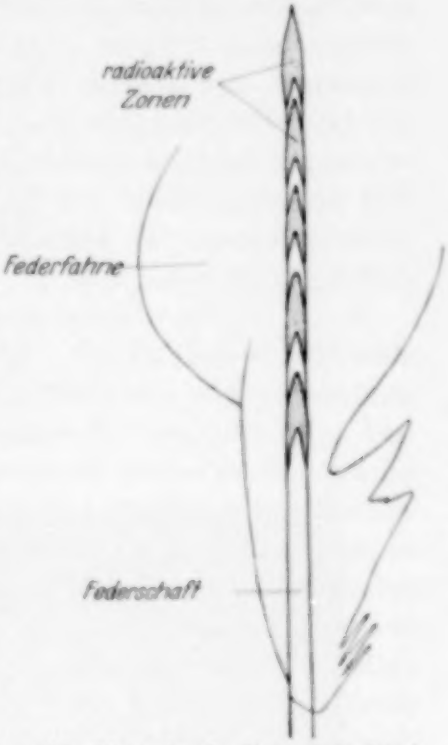


Abb. 26. *Columba livia*. Schaftteil der 5. linken Handschwinge eines mehrfach injizierten Vogels (vgl. Text). $^1/_2$ nat. Größe

Es wurden auch, wie bereits oben kurz erwähnt, mehrfache Injektionen mit einer isotonischen radioaktiven ^{35}S-DL-Methioninlösung in die Brustmuskulatur und außerdem mehrfache orale Gaben bei Tauben verabfolgt. Für die Injektionsversuche wurden im Abstand von je 24 Std fünfmal hintereinander 0,5 ml zu je 0,22 mC gegeben. Diesen fünffachen Injektionen folgte nach weiteren 24 Std eine sechste mit 0,1 ml und einer Aktivität von 0,05 mC. Oral wurden gegeben fünfmal 0,5 ml mit einer Aktivität von 0,2 mC im Abstande von 24 Std sowie nach einem weiteren Tag 0,3 ml mit einer Aktivität von 0,12 mC.

Die verabfolgten Strahlungsmengen waren offenbar zu hoch, um eine gegenseitige Überstrahlung ausschließen zu können. Immerhin ergaben die Injektionsversuche klarere Autoradiographien als die Versuche nach oraler Applikation. Insbesondere konnte auf den Autoradiographien der Ventralseiten der Federn im Bereich des Schaftes eine rhythmische Schwärzung beobachtet werden. Diese rhythmische Schwärzung des Schaftes im Bereich der radioaktiven, stark strahlenden Zone und seinem apikalen Spitzenfortsatz hatte die Form tütenartig ineinandergeschachtelter nach oben spitzer Kettenglieder (Abb. 26).

Bemerkenswert ist vielleicht die Tatsache, daß das äußerste apikale, dem ersten Injektionstermin entsprechende Kettenglied auf der Autoradiographie fast vollständig in dem schwarzen (auf dem Negativ der Autoradiographie natürlich weißen), die radioaktiv stark strahlende Zone apikalwärts überragenden Spitzenfortsatz lag. Die Maxima der rhythmischen Schwärzung des Schaftes der 5. Handschwinge z. B. lagen etwa 6—9 mm voneinander entfernt. Aus der Wachstumskurve der entsprechenden Feder ging hervor, daß diese an den ersten vier Injektionstagen sich noch in vollem Wachstum befand. Für diese Zeit wurde ein täglicher Zuwachs von 7,3 mm errechnet, was eine gute Übereinstimmung mit dem aus der Autoradiographie abgelesenen Wert bedeutet. Auf der Federfahne war im Gegensatz zum Schaft infolge der hohen Aktivitätsdosen bei kurzen Zeitabständen eine rhythmische Differenzierung nicht erkennbar.

Auch bei den Schwanzdecken war die distale Begrenzung der stark strahlenden radioaktiven Querzone zuweilen stärker dem Verlauf der natürlichen Zuwachsstreifen auf der Feder angeglichen als bei den Hand- und Armschwingen. Zuweilen war sogar ein distales und ein proximales, schwach strahlendes Querband von der stark strahlenden radioaktiven Zone differenzierbar. Auch der in der Abb. 20 erwähnte Unterschied zwischen den Autoradiographien der Dorsal- und Ventralseite war deutlich erkennbar. Die Puderdunen waren von der apikalen Federfahne auf der Autoradiographie mehr oder weniger stark abgesetzt, wobei der apikale Federfahnenteil offenbar wegen seines dichteren Gefüges den Röntgenfilm stärker schwärzte. Die Negative waren in diesem Bereich also entsprechend heller.

Die Entfernung der distalen Grenze der stark strahlenden radioaktiven Querzone lag am Schaft für die 1. Unterschwanzdecke 36 mm, für die zweite 30 mm und für die dritte 17 mm von der Federspitze entfernt. Da die 1. Unterschwanzdecke am Applikationstag eine Außenlänge von 38 mm besaß, bedeutet das, daß hier das radioaktive Isotop der stark strahlenden Zone nach der Applikation nur sehr wenig über das Oberflächenniveau der Haut hinausgewandert sein muß. Bei den anderen beiden Schwanzdecken, die sich am Tage der Applikation in ihrer Länge von der ersten kaum unterscheiden, liegt der Wert für den Weg des radioaktiven Isotops über das Oberflächenniveau der Haut entsprechend höher. In jedem Fall aber deuten die schwachen Strahlungsbänder oberhalb der radioaktiv stark strahlenden Zone darauf hin, daß das Isotop hier noch etwa um weitere 5 mm nach der Injektion hinaufgewandert sein mußte. Nur der Vollständigkeit halber sei hier bemerkt, daß auch die Oberschwanzdecken sowie das Rückengefieder eine ähnliche Zonenaufteilung ihrer radioaktiven Bereiche aufwiesen. Tertiärfedern, die also erst nach der Applikation der radioaktiven Methioninlösung ihr Wachstum beginnen konnten, ergaben Autoradiographien mit einer gleichmäßigen, wenn auch etwas schwächeren Schwärzung der gesamten Feder.

D. Federanalysen

Entsprechend den in einer früheren Arbeit (LÜDICKE 1961) angeführten Methoden erfolgte eine papierchromatographische Unter-

suchung der das radioaktive Isotop enthaltenden Federteile. Die radioaktive Strahlung wurde mit Hilfe eines Methandurchflußzählers und auch autoradiographisch auf den Papierchromatogrammen nachgewiesen. Für die genaue Lokalisation der aufgefundenen schwefelhaltigen

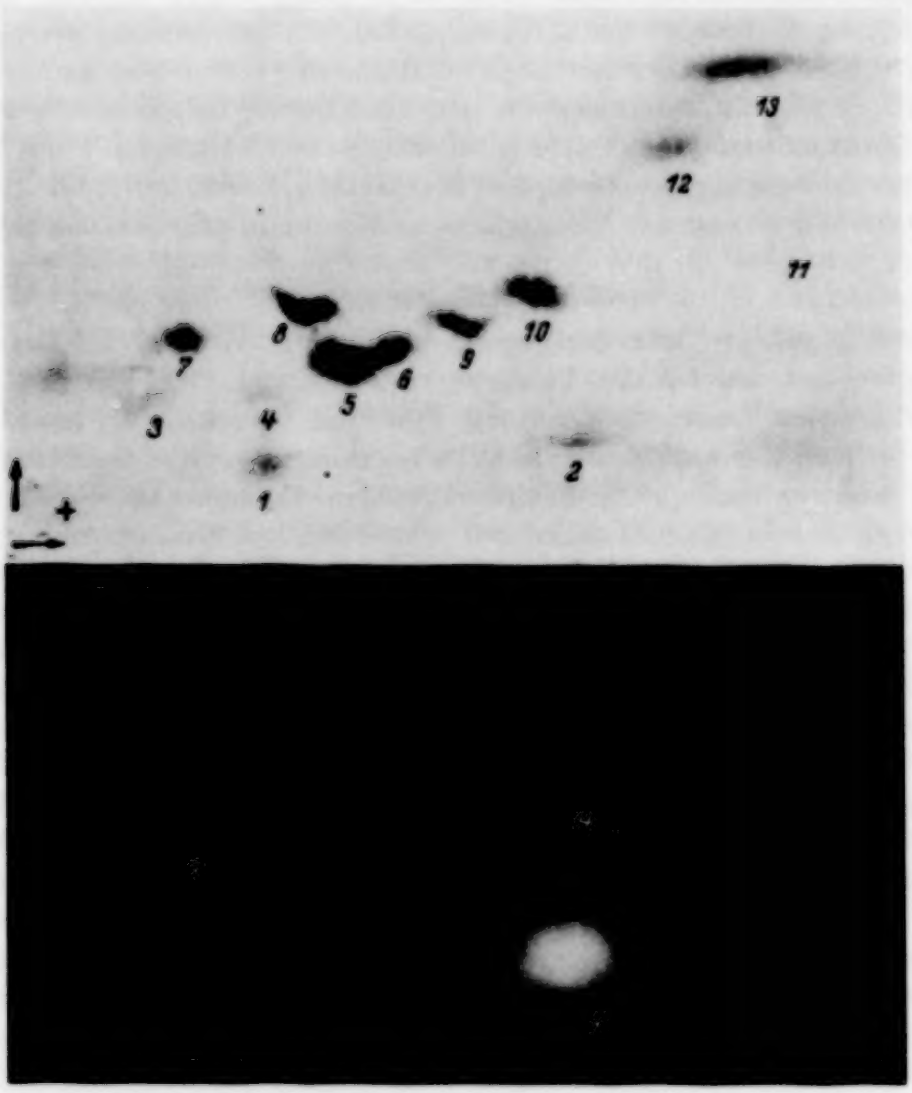


Abb. 27. *Columba livia*. Zweidimensionales verkleinertes Papierchromatogramm (a) eines Hydrolysates der Schwanzfedern und das Negativ eines Teiles seiner Autoradiographie (b), zur Demonstration der radioaktiven Strahlung im Bereich des Cystins und Cysteins (*1*) sowie Lanthionins (*3*) und Taurins (*4*). (a) 0,4fach. (b) 0,9fach

Aminosäuren fanden Testsubstanzen neben dem Federhydrolysat Verwendung. Es wurde ein- und zweidimensional chromatographiert.

Wie aus der beigegebenen Abb. 27a und b hervorgeht, fand sich auf dem Papierchromatogramm eine radioaktive Strahlung im Bereich des Cystins, Cysteins, Lanthionins und Taurins. Das bedeutet natürlich noch nicht, daß diese Substanzen sich auch wirklich im Federkeratin befinden. Zumindest das Taurin dürfte dabei bei der sauren Feder-

hydrolyse sekundär entstanden sein. Bis zu einem gewissen Grade ist eine sekundäre Entstehungsweise neben dem natürlichen Vorhandensein im Federhorn auch für das Cystein und Lanthionin gegeben. Eigenartigerweise konnte radioaktives Methionin trotz seiner Verwendung als Applikationsmittel im Federkeratin nicht nachgewiesen werden. Auch in anderen Federn ist der Methioningehalt verhältnismäßig gering, so z. B. 0,4—0,5% bei weißen Leghorn-Hühnern (WARD und LUNDGREN 1954). In diesem Zusammenhang mag auch darauf hingewiesen werden, daß TARVER und MORSE (1948), allerdings bei Ratten, eine nur sehr geringe Ablagerung des Isotops in den Haaren und in der Haut 24 Std nach der Fütterung mit ^{35}S-markiertem Methionin erhalten haben.

E. Schlußfolgerungen

Die gewählte Darstellungsweise nach Aufgliederung der Befunde entsprechend den für die Versuche verwendeten Arten mag bei dem unbefangenen Leser zunächst den Eindruck erwecken, als handle es sich vielfach nur um protokollarische Notizen, aus denen sogleich mehr oder weniger spekulative Schlüsse gezogen werden. Es wurde aber tatsächlich das ganze Material auf seinen inneren Zusammenhang geprüft und diese Form der Darstellung aus folgenden Gründen als notwendig erachtet:

Die Wellensittiche gehören zu den Vogelgruppen, die sich durch eine Diastataxie auszeichnen, d. h. daß bei ihnen am Unterarm die zu der ausgebildeten 5. großen oberen Deckfeder zugehörige Armschwinge scheinbar fehlt. Alle *Passeres* sind dagegen eutaxisch, d. h. daß bei ihnen die Zahl der großen oberen Armdecken mit der Zahl der Armschwingen übereinstimmt. Die *Columbae* aber nehmen eine Zwischenstellung ein. Sie sind meist diastataxisch, jedoch einige auch eutaxisch. Ihre Federn aber zeichnen sich durch eine ausgedehnte dunige Zone aus. Die sich entfaltende Konturfeder der Tauben liefert in starkem Maße Hornpuder, von dem unter den geschilderten Versuchsbedingungen angenommen werden muß, daß es ebenfalls radioaktiv ist. Diese Hinweise mögen als Begründung dafür genügen, daß bei Untersuchungen über das Federwachstum mit Hilfe radioaktiver Isotope zunächst einmal die Aufgliederung der Versuchsergebnisse nach den systematischen Gruppen beibehalten wurde.

Bei den verwendeten Strahlungsdosen ist im Unterschied zu den ^{35}S-Sulfatversuchen bei den ^{35}S-Methioninversuchen in allen Fällen ein *proximales stark strahlendes Areal* auf den Federfahnen und dem Schaft zu erhalten, wie es z. B. die Abb. 15 in typischer Weise demonstriert. Die Größe dieses Areals ist erstens abhängig von der Wachstumsphase der Feder zum Zeitpunkt der Applikation der radioaktiven Lösung.

Sie wird zweitens bestimmt durch die Höhe der Strahlungsdosis und drittens durch die von Art zu Art verschiedene Retention des radioaktiven Isotops im Organismus.

Es zeigt sich ferner stets ein deutlicher *Unterschied in den Autoradiographien der Dorsal- und Ventralseite der Federn*, indem die Dorsalseite eine Kerbe schwacher Strahlung, die Ventralseite aber eine die distale Grenze des stark strahlenden Areals überragende Strahlungsspitze im Bereich des Federschaftes aufweist (Abb. 20a und b). Beim Wellensittich wird jedoch zuweilen bei der Autoradiographie der Dorsalseite die Kerbe schwacher Strahlung von zwei lateralen Strahlungsspitzen eingefaßt (Abb. 8).

Die dorsoventralen Differenzierungen stehen in Beziehung zu den Schaftleisten und den Coriumpapillen und werden bei mehrfacher Injektion der radioaktiven Lösung in Form spindelförmiger Strahlungszeichnungen (Abb. 26) erhalten.

Bei den verwendeten Strahlungsdosen wird in zahlreichen Fällen distal von dem oben beschriebenen stark strahlenden Areal ein *schmales schwach strahlendes Band, die vorgeschobene Zone*, beobachtet (Abb. 22 und 24). Die Breitenunterschiede dieses Strahlungsbandes sind je nach Federtyp gleicher Länge, definitiver Federlänge des gleichen Typs, Wachstumsphase zum Zeitpunkt der Applikation und Vogelart verschieden. Diese vorgeschobene Zone darf nicht verwechselt werden mit dem bei den Sulfatversuchen entdeckten, breiten schwachen Strahlungsband, das erst mehrere Tage nach der Applikation auftritt und also einem mehr Zeit beanspruchenden stoffwechselphysiologischen Geschehen zugeordnet werden muß (vgl. Abb. 9 unserer früheren Arbeit: Lüdicke 1961). Dieses breite Strahlungsband konnte bei unseren ^{35}S-Methioninversuchen mit den von uns bisher verwendeten Aktivitäten nicht aufgefunden werden.

In allen Fällen konnte bei Applikation der radioaktiven Methioninlösungen während einer bestimmten Wachstumsphase ein *Emporwandern des radioaktiven Isotopes oder der es enthaltenden Derivate* über das Oberflächenniveau der Haut nachgewiesen werden (Abb. 1). Dieses Emporwandern kann sowohl den distalen Teil des proximalen, stark strahlenden Areals als auch die distale vorgeschobene Zone betreffen. Die Höhe des Emporwanderns des Isotopes ist dabei wieder vom Federtyp und von der Federlänge (Abb. 7) abhängig. Sie steht offenbar mit den sich allmählich zurückziehenden Coriumpapillen und der damit verbundenen Verlagerung der keratogenen Zone in Beziehung. Das radioaktive Isotop bzw. die es enthaltenden Derivate werden nicht einfach als filmartiger Belag von den beiden Coriumpapillen her an die inneren Hornlagen angelegt, sondern direkt in das Hornmaterial

aufgenommen (Abb. 21). Diese *Aufnahme des Isotops in das Hornmaterial* wird durch papierchromatographische Trennung der Aminosäuren von Federhydrolysaten (Abb. 27) und durch autoradiographische Untersuchungen von Längs- und Querschnitten des Federschaftes und seiner Spule bestätigt (Abb. 21).

Sowohl die schwach strahlende vorgeschobene Zone (Abb. 24) als auch das proximale stark strahlende Areal (Abb. 17b und 18) kann eine *rhythmische Querbänderung* zeigen. Diese Querbänder stehen auf der Federfahne in gleichem Winkel zu dem proximalen Schaftteil wie die natürlichen Zuwachsstreifen. Sie können schmaler sein als es dem natürlichen Tag- und Nachtrhythmus entspricht. Niemals aber wurden sie breiter als der Tagesperiode entsprechend vorgefunden. Es hat den Anschein, als ob der durch die radioaktiven Streifen zum Ausdruck kommende stoffwechselphysiologische Rhythmus eng mit strukturellen Veränderungen der Feder verknüpft ist. Man könnte sich vorstellen, daß der Einzelausschlag innerhalb des normalen Rhythmus, wie er sich in den natürlichen Zuwachsstreifen dokumentiert, unter bestimmten Bedingungen in seiner Intensität sowohl nach der positiven als auch nach der negativen oder aber nach einer dieser Seiten extrem verstärkt wird und so zu einer Bildung von Fehlstreifen führen kann. Mit anderen Worten ausgedrückt würde das heißen, daß Fehlstreifen gewissermaßen maximale Ausschläge dieses stoffwechselphysiologischen Rhythmus darstellen, die bei der wachsenden Feder eine empfindliche Störung der Ausbildung ihrer Fahne verursachen. Außerdem kann auch eine strukturbedingte Schwächung des Federmaterials an sich schon bei nicht zu starken stoffwechselphysiologischen Ausschlägen allein durch die spätere Funktion zu einer Abnutzung der entsprechenden Federzonen und damit zu Fehlstreifen führen. Es muß daher zwischen von vornherein angelegten und durch den Gebrauch der Federn entstandenen Fehlstreifen unterschieden werden. Immer aber hängen Schwächung des Federmaterials und stoffwechselphysiologischer Ausschlag sehr eng miteinander zusammen.

Man findet also von den unter normalen Verhältnissen entstehenden normalen Zuwachsstreifen bis zu den schweren Schädigungen echter Fehlstreifen alle Übergänge entsprechend den mehr oder weniger starken Ausschlägen des stoffwechselphysiologischen Rhythmus (vgl. RIDDLE 1908). Welche Faktoren bei diesen stoffwechselphysiologischen Rhythmen im einzelnen maßgeblich sind, ist bis heute noch unbekannt. Man weiß, daß Amylnitrit z. B. Fehlstreifen verursacht. Auch bei bestimmten Dosen von Adrenalin konnte einer unserer Mitarbeiter, Herr MAUCHER, Fehlstreifen erzeugen (vgl. hierzu auch STRESEMANN 1927 bis 1934).

Der parallel gehende Wachstumsverlauf der Schwung- und Steuerfedern von verschiedenen Vögeln des gleichen Käfigs (Abb. 15 und 16 der früheren Arbeit: LÜDICKE 1961) zeigt, daß Umweltfaktoren wie Nahrung, Temperaturverhältnisse, vor allem aber eine wechselseitige Beeinflussung der Tiere selbst von Bedeutung sein können. Der Verfasser konnte bei einer Saatkrähe durch Hetzen Fehlstreifen erzeugen.

Schließlich muß noch darauf hingewiesen werden, daß auch im an sich strahlungsfreien Federfahnenbereich, d.h. also in dem Fahnenteil, der bereits schon vor der Injektion der radioaktiven Methioninlösung fertig ausgebildet war, auf den Autoradiographien rhythmische Strahlungsbänder nachgewiesen werden konnten. Diese insbesondere bei Tauben auftretenden *Rhythmen im an sich strahlungsfreien Fahnenteil* sind nur so zu erklären, daß hier Hornpuder als Strahlungsquelle wirksam ist, und daß durch strukturelle Rhythmen der Feder selbst die Strahlungsrhythmen auf den Röntgenfilmen verursacht werden. Ein Hochwandern des radioaktiven Isotops oder der es enthaltenden Derivate in den vollständig abgestorbenen Hornelementen der Feder wird absolut verneint. Der Befund aber unterstreicht, da er vor allem bei Tauben festzustellen ist, die Notwendigkeit der systematischen Gliederung der Versuchsergebnisse und die besondere Beachtung artlicher Federdifferenzierungen. Alle diese Rhythmen, diejenigen in der vorgeschobenen Zone, diejenigen im proximalen stark strahlenden Areal, ja selbst diejenigen durch Hornpuder auf den Autoradiographien zur Darstellung kommenden Rhythmen des an sich strahlungsfreien Fahnenteiles sind unter anderem bedingt durch stoffwechselphysiologische Faktoren. Dabei kann die Feder gegenüber dem Gesamtorganismus einen Eigenrhythmus aufweisen. Man spricht heute so viel von der „inneren Uhr" der Vögel. Sie liegt m. E. in solchen stoffwechselphysiologischen Rhythmen begründet, und die Federn zeichnen einem Kymographion gleich uns einen Teil dieser Rhythmen auf. Man sollte diese natürliche Methode der Registrierung des „Stundenschlages der inneren Uhr" der Vögel mehr beachten, als es bisher geschehen ist.

Zusammenfassung

Wellensittichen *(Melopsittacus undulatus)*, Elstern *(Pica pica)* und Haustauben *(Columba livia)* werden 0,1—1 ml einer isotonischen ^{35}S-DL-Methioninlösung mit Aktivitäten von 0,05—1,2 mC beiderseits der Crista sterni in die Brustmuskulatur injiziert.

Die Lokalisation des in den heranwachsenden, primären Konturfedern, aber auch nach natürlicher Mauserung oder künstlicher Entfernung derselben in den folgenden Federgenerationen abgelagerten

radioaktiven Isotops erfolgt mit einem Methan-Durchflußzähler oder autoradiographisch.

An den Deck- und Flugfedern kann ein proximales, stark strahlendes Areal mit einem bogenförmigen Verlauf seiner apikalen Begrenzung von einem oder mehreren distalen Strahlungsbändern schwacher Aktivität unterschieden werden.

Die distalen Strahlungsbänder treten häufig in einer rhythmischen Folge auf, wobei ihr Winkel zu dem proximalen Schaftteil in etwa dem der natürlichen Zuwachsstreifen mit diesem entspricht. In der rhythmischen Folge dieser Zuwachsstreifen ist nicht selten noch ein weiterer Unterrhythmus erkennbar.

Die Breitenunterschiede der distalen Strahlungsbänder bzw. die Amplituden ihrer Rhythmen sind nicht ausschließlich korreliert mit der jeweiligen definitiven Federlänge, sondern auch abhängig von der Wachstumsphase der Feder am Applikationstermin und in gewisser Weise kennzeichnend für den Federtyp.

Für das Ausbreitungsvermögen des radioaktiven Isotops bzw. der dasselbe enthaltenden Verbindungen kann auch eine gewisse Individualität der Einzelfeder festgestellt werden.

Auch in dem proximalen, stark strahlenden Areal ist bisweilen *(Pica pica)* eine rhythmische Ablagerungsfolge des radioaktiven Isotops zu beobachten. Der Winkel dieser radioaktiven Streifen entspricht ebenfalls etwa dem der natürlichen Zuwachsstreifen mit dem proximalen Schaftteil.

Bei einmaligen Injektionen von Methioninlösungen nicht zu hoher Strahlungsdosen wird bei Applikation in einer frühen Wachstumsphase der Feder eine proximalwärts abnehmende Strahlungsintensität auf der Fahne und dem Schaft gefunden. Dabei nimmt die Aktivität der Fahnen schneller ab als die des Schaftes, d. h. dieser schwärzt den Röntgenfilm weiter proximal als die Außen- und Innenfahne.

Bei den Autoradiographien der Dorsal- und Ventralseiten der Konturfedern ergibt sich ein deutlicher Unterschied. Die Dorsalseite zeigt an der distalen Grenze des stark strahlenden Areals auf dem Röntgenfilm im Gebiet des Federschaftes eine strahlungsschwache Kerbe, die Ventralseite dagegen eine die distale Grenze des stark strahlenden Areals überragende Strahlungsspitze.

In verschiedener Höhe durch den Federschaft markierter Federn geführte Querschnitte zeigen bei entsprechender junger Wachstumsphase im Spulenbereich eine radioaktive Strahlung der Spulenwand und der Federscheide, sowie weiter apikal auch eine solche der Hornsepten, der Schaftschenkel und der Markzellen des Schaftes *(Columba livia)*.

Bei hohen applizierten Strahlungsdosen kann eine langsame Abnahme der Aktivitäten über mehrere Federgenerationen verfolgt werden. Mehrfache, in 24stündigem Abstand folgende Injektionen nicht zu hoher Aktivitäten markieren sich auf dem Federschaft in der Form tütenartig ineinandergeschachtelter, oval ausgebuchteter Strahlungsrhythmen *(Columba livia)*.

Eine zeitmäßige Zuordnung der distalen Grenzen der distalen Strahlungsbänder und des proximalen Areals hoher Aktivität zum Applikationstermin ergibt für Federn einer frühen Wachstumsphase ein Emporwandern des radioaktiven Isotopes über das Oberflächenniveau der Haut nach der Applikation.

Die natürlichen Zuwachsstreifen decken sich zuweilen *(Pica pica)* mit wellenförmigen Erhebungen und Vertiefungen auf der Federfahne. Diese können auch auf die Dorsalseite des Schaftes übergreifen. Ebenso können die Ansätze der Rami an den Schaftseiten in einer wellenartigen Folge inserieren. Dabei besteht die Möglichkeit, daß die Wellen der Federfahne mit den rhythmischen Schwankungen der Strahlungsintensität zusammenfallen, und unter gewissen Umständen können Fehlstreifen als extreme Ausschläge eines stoffwechselphysiologischen Rhythmus, wie er in der Folge der radioaktiven Querbänderung zum Ausdruck kommt, angesehen werden. Die auf dem Röntgenfilm in Erscheinung tretende Querbänderung der Federfahne kann durch quantitative Ablagerungsunterschiede des radioaktiven Isotops und, wenn auch in wesentlich geringerem Maße, durch Änderungen der Hornstruktur bedingt sein. Eine autoradiographische Auswertung von ein- und zweidimensionalen Papierchromatogrammen von Hydrolysaten markierter Federn läßt eine radioaktive Strahlung im Bereich des Cystin, Cystein, Taurin und Lanthionin erkennen. Dabei ist aber zu bedenken, daß Cystein und Lanthionin und insbesondere das Taurin durch die chemische Aufbereitung entstanden sein können. ^{35}S-Methionin konnte sowohl autoradiographisch als auch mit dem Methandurchflußzähler nicht erfaßt werden.

Meinen beiden Mitarbeitern, den Herren Bruno Geierhaas und Werner Stössel, danke ich auch diesmal wieder für hilfreiche technische Assistenz und dem *Landesgewerbeamt Baden-Württemberg* sowie der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für eine finanzielle Unterstützung dieser Untersuchungen.

Literatur

Lowe, I. P., and E. Roberts: Incorporation of radioaktive sulfate sulfur into taurine and other substances in the chick embryo. J. biol. Chem. **212**, 477—483 (1955).

Lüdicke, M.: Über eine rhythmische Ablagerung von radioaktivem Schwefel bei der Vogelfeder. Naturwissenschaften **23**, 658—659 (1959).

— Die Kennzeichnung der Zuwachsstreifen in der wachsenden Konturfeder mit Hilfe von radioaktivem Natriumsulfat. Z. vergl. Physiol. **44**, 133—173 (1961).

Machlin, L. J., P. B. Pearson and C. A. Denton: The utilization of sulfate sulfur for the synthesis of taurine in the developing chick embryo. J. biol. Chem. **212**, 469—475 (1955).

Riddle, O.: The genesis of fault bars in feathers and the cause of alteration of light and dark fundamental bars. Biol. Bull. Mar. biol. Lab. Wood's Hole **14**, 328—371 (1908).

Sick, H.: Morphologisch-funktionelle Untersuchungen über die Feinstruktur der Vogelfeder. J. Ornithol. **85**, 206—372 (1937).

— Die Vogelfeder als Widerspiegelung der Lebensweise des Vogels. IX. Congr. Ornithologique Internat. Rouen 1938, S. 478—502.

Stresemann, E.: Handbuch der Zoologie von W. Kükenthal, Bd. 7, 2. Hälfte; *Sauropsida: Aves.* Berlin u. Leipzig: W. de Gruyter & Co. 1927—1934.

Tarver, H., and L. M. Morse: The release of the sulfur from the tissues of rats fed labeled methionine. J. biol. Chem. **173**, 53—61 (1948).

Ward, W. H., and H. P. Lundgren: The formation, composition and properties of the keratins. Advanc. Protein Chem. **9**, 273 (1954).

Wood, H. B.: Growth bars in feathers. Auk **67**, 486—491 (1950).

Es wurden nur diejenigen Literaturzitate aufgeführt, auf die in dieser Arbeit selbst Bezug genommen wird. Alle übrigen, für das Problem ebenfalls nicht unwichtigen Literaturhinweise finden sich in unserer früheren Arbeit (Lüdicke 1961).

Prof. Dr. Manfred Lüdicke,
Zoologisches Institut der Ruprecht-Karl-Universität, Heidelberg, Sofienstr. 6

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und ohne inhaltliche Wiederholung geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Knappe, klare Figurenunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text; sie sind auf einem gesonderten Blatt dem Manuskript beizufügen. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in Ausnahmefällen Aufnahme finden. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden, transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

10. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

11. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten, mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt, und geleitet hat oder wem die Mittel verdankt werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

LÜDICKE, M.: Über eine rhythmische Ablagerung von radioaktivem Schwefel bei der Vogelfeder. Naturwissenschaften **23**, 658—659 (1959).
— Die Kennzeichnung der Zuwachsstreifen in der wachsenden Konturfeder mit Hilfe von radioaktivem Natriumsulfat. Z. vergl. Physiol. **44**, 133—173 (1961).
MACHLIN, L. J., P. B. PEARSON and C. A. DENTON: The utilization of sulfate sulfur for the synthesis of taurine in the developing chick embryo. J. biol. Chem. **212**, 469—475 (1955).
RIDDLE, O.: The genesis of fault bars in feathers and the cause of alteration of light and dark fundamental bars. Biol. Bull. Mar. biol. Lab. Wood's Hole **14**, 328—371 (1908).
SICK, H.: Morphologisch-funktionelle Untersuchungen über die Feinstruktur der Vogelfeder. J. Ornithol. **85**, 206—372 (1937).
— Die Vogelfeder als Widerspiegelung der Lebensweise des Vogels. IX. Congr. Ornithologique Internat. Rouen 1938, S. 478—502.
STRESEMANN, E.: Handbuch der Zoologie von W. KÜKENTHAL, Bd. 7, 2. Hälfte; *Sauropsida: Aves*. Berlin u. Leipzig: W. de Gruyter & Co. 1927—1934.
TARVER, H., and L. M. MORSE: The release of the sulfur from the tissues of rats fed labeled methionine. J. biol. Chem. **173**, 53—61 (1948).
WARD, W. H., and H. P. LUNDGREN: The formation, composition and properties of the keratins. Advanc. Protein Chem. **9**, 273 (1954).
WOOD, H. B.: Growth bars in feathers. Auk **67**, 486—491 (1950).

Es wurden nur diejenigen Literaturzitate aufgeführt, auf die in dieser Arbeit selbst Bezug genommen wird. Alle übrigen, für das Problem ebenfalls nicht unwichtigen Literaturhinweise finden sich in unserer früheren Arbeit (LÜDICKE 1961).

Prof. Dr. MANFRED LÜDICKE,
Zoologisches Institut der Ruprecht-Karl-Universität, Heidelberg, Sofienstr. 6

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und ohne inhaltliche Wiederholung geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.

5. Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Knappe, klare Figurenunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text; sie sind auf einem gesonderten Blatt dem Manuskript beizufügen. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur *ein* gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in Ausnahmefällen Aufnahme finden. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden, transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

10. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

11. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten, mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt, und geleitet hat oder wem die Mittel verdankt werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

An Experimental Study of Pituitary Tumours

Genesis, Cytology and Hormone Content

By Dr. KWA HONG GIOK,

The Netherlands' Cancer Institute, Amsterdam

Mit 17 Abbildungen. IV, 94 Seiten Gr.-8°. 1961. DM 19,80

(In englischer Sprache)

CONTENTS

Introduction · Pituitary tumours in mice and rats: A survey of the literature. Discussion. Summary and conclusions · The incidence and the rate of growth of experimental pituitary tumours in various strains of mice and in rats: Experimental. Discussion and conclusion · Morphological characteristics of experimental pituitary tumours of mice of different inbred strains: Comparison of the morphology of oestrone-induced and "radiothyroidectomy"-induced pituitary tumours employing a tri-chrome stain. Differentiation of the two types of pituitary tumours by the PAS reaction · The thyroid stimulating hormone (TSH) content of experimentally induced pituitary tumours in mice: Substances in mouse pituitary homogenates interfering with a comparative TSH-assay. Comparative assays of the TSH content of pituitaries of mice treated in various ways to induce pituitary tumour development · General Summary · References.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany